



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



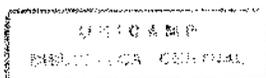
CELSO SILVA QUEIROZ

**AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE ESTRESSE E A CONCENTRAÇÃO DE
COMPOSTOS SULFURADOS VOLÁTEIS NO HÁLITO BUCAL**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Fisiologia Oral.

Piracicaba

-1999-





CELSO SILVA QUEIROZ

**AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE ESTRESSE E A CONCENTRAÇÃO DE
COMPOSTOS SULFURADOS VOLÁTEIS NO HÁLITO BUCAL**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Fisiologia Oral.

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CCPG-036/83
CPG, 15/03/2000

Assinatura do Orientador

ORIENTADOR: PROF. DR. JAIME APARECIDO CURY

Comissão Examinadora:
Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury
Prof.^a. Dr.^a. Maria Cecilia Ferraz de Arruda Veiga
Prof.^a. Dr.^a. Olinda Tárzia

Piracicaba

-1999-

UNIDADE	B. C.
N.º CHAMADA:	UNICAMP
	Q32a
V.	Ex.
TOMEO DO	409FF
PREÇO	278100
C	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>
	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	29/09/00
N.º CPD	

CM-00140622-1

Ficha Catalográfica

Q32a Queiroz, Celso Silva.
 Avaliação da relação entre estresses e a concentração de compostos sulfurados voláteis no hálito bucal. / Celso Silva Queiroz. —del s. — Piracicaba, SP : [s.n.], 1999.
 113. : il.

Orientador : Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Stress. 2. Saliva - Fisiologia. 3. Síndrome pré-menstrual. 4. Compostos químicos. I. Cury, Jaime Aparecido. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 13 de Dezembro de 1999, considerou o candidato CELSO SILVA QUEIROZ aprovado.

1. Prof. Dr. JAIME APARECIDO CURY

2. Profa. Dra. OLINDA TÁRZIA

3. Profa. Dra. MARIA CECILIA FERRAZ ARRUDA VEIGA

DEDICATÓRIA

A minha família

Meus pais

Benedito Queiroz

Benedita Silva Queiroz

que, com coragem, perseverança e integridade, enfrentaram as adversidades da vida, auxiliando-nos a desenvolver virtudes intelectuais e morais.

Meus irmãos

Marly, Moacir, Adalgisa e Marcos

pelo apoio e amizade.

Minha noiva

Karyn Fabiana Rodrigues Branco

pelo profundo amor, afeição e sabedoria que me inspira a ser cada vez melhor.

“Onde achará o homem doçura maior que em seu lar e seus parentes?”

HOMERO

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela vida e pelas oportunidades.

Isto diz o Senhor: “Bendito o homem que confia no Senhor, cuja esperança é o Senhor; é como a árvore plantada junto às águas, que estende as raízes em busca de umidade, por isso não teme a chegada do calor: sua folhagem mantém-se verde, não sofre mingua em época de seca e nunca deixa de dar frutos”.

Jr 17, 5-8

Ao meu orientador Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury, não somente pela orientação
segura neste trabalho,
mas principalmente pela acolhida e pelo incentivo
ao meu crescimento acadêmico e pessoal.
Muito obrigado.

À Prof^a. Cinthia Pereira Machado Tabchoury, que coorientou ativamente no
desenvolvimento deste trabalho e me ajudou a enxergar os melhores caminhos para
meu desenvolvimento acadêmico.

À Prof^a. Dr^a. Maria Cecilia Ferraz de Arruda Veiga, Coordenadora da Área de
Fisiologia Oral do Curso de Pós-Graduação em Odontologia, FOP-UNICAMP.

Às Professoras da Disciplina de Fisiologia
Dr^a. Cláudia Herrera Tambeli, e particularmente à
Dr^a. Fernanda Klein Marcondes, pelas sugestões na discussão do trabalho.

Aos mestres, com carinho.

Ao magnífico Reitor da UNICAMP, Prof. Dr. Hermano de Medeiros Ferreira Tavares.

Ao Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, Prof. Dr. Antonio Wilson Sallum.

À Profa. Dra. Altair Antoninha Del Bel Cury, Coordenadora Geral do curso de Pós-Graduação da FOP- UNICAMP.

Ao Prof. Dr. Antonio Bento A. de Moraes, pelas sugestões apresentadas para avaliar a condição de estresse deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Celso Paulino da Costa, pela amizade.

À Prof. Dra. Glauca M. Bovi Ambrosano, a qual colaborou na análise estatística dos dados deste trabalho.

À amiga Leonice Rosante por seu ilimitado apoio, energia e entusiasmo.

À amiga Mitsue Fujimaki, quem sempre me fez acreditar que sou capaz.
É um privilégio conviver contigo.

Ao amigo Michel, o qual sempre terá minha admiração e quem sempre eu guardarei em meu coração.

Aos amigos Silvana e Paulo, pessoas tão boas e carinhosas difíceis de encontrar num mundo tão hostil.

À amiga Ana Maria, que sempre me ouviu nos momentos mais difíceis.

À amiga Ynara, pela sugestão dos gráficos.

À amiga Adriana, seja bem vinda na pós-graduação e sucesso.

Ao amigo Franco pela companhia de hoje e sempre.

À amiga Raquel pelo incentivo e informações cedidas, boa sorte!

Aos amigos de pós-graduação, Deise, Suzane, Júlio, Giedre, Sérgio, João, Viviane, Renata, Ariane e Neto.

Aos amigos Daniel, Carolina Aires, Carla, Carolina Carraro, Danilo, Tatiana, Gustavo e Aline, alunos de Iniciação Científica do Laboratório de Bioquímica Oral, FOP-UNICAMP.

Aos técnicos de Laboratório de Bioquímica Oral, da FOP-UNICAMP, Mariza de Jesus Carlos Soares, Waldomiro Vieira Filho e José Alfredo da Silva, pelo carinho demonstrado, pelo auxílio necessário e pela amizade.

À Heloísa Maria Ceccotti, pela revisão das referências bibliográficas.

À secretária do Departamento de Ciências Fisiológicas, Shirley, à sua ex-assistente Cibele e atual assistente Kelly.

Aos voluntários, que compartilharam um pouco de suas vidas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Proc. n.º. 98/01100-7), pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste estudo.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

LISTAS -----	1
1. Listas de figuras-----	1
2. Listas de tabelas-----	1
3. Listas de abreviaturas-----	2
4. Listas de Fórmulas Químicas-----	3
RESUMO -----	5
ABSTRACT -----	7
INTRODUÇÃO -----	9
REVISÃO DE LITERATURA -----	11
1. Halitose-----	11
1.1.Histórico-----	11
1.2.Definição-----	11
1.3.Importância-----	12
1.4.Etiologias Bucais-----	12
1.5.Etiologias Não Bucais-----	16
1.6.Métodos de Medidas dos CSV-----	18
2. Estresse-----	23
2.1.Conceito-----	23
2.2.Estressores-----	25
2.3.Fases do estresse-----	26
2.4.Contribuição do estresse para a patogênese de doenças-----	28
2.5.O sistema neuroendócrino-----	30
2.6.Estresse e imunomodulação-----	30
2.7.Substância P e imunomodulação-----	32
2.8.Doenças gengivais/periodontais, defesa imune e estresse-----	33
3. Saliva-----	35
3.1.Introdução-----	35
3.2. Secreção salivar-----	36
3.3.Fluxo salivar-----	37
3.4. Hipossalivação-----	40
4. Ciclo Menstrual-----	41
4.1. Relação Relação entre Síndrome Pré-Menstrual e Odontologia-----	41
PROPOSIÇÃO -----	45

METODOLOGIA -----	47
1. Seleção dos voluntários-----	47
2. Considerações éticas-----	47
3. Grupos experimentais-----	47
4. Delineamento do estudo-----	48
4.1. Aplicação do questionário-----	48
4.2. Experimento - Estudo I-----	49
4.3. Experimento - Estudo II-----	49
5. Medida dos compostos voláteis-----	50
6. Medida do fluxo salivar-----	52
7. Medida do pH-----	52
8. Medida da "capacidade tampão"-----	53
9. Determinação da concentração de fósforo-----	53
10. Análise da concentração de proteína-----	53
11. Determinação da concentração de cálcio-----	54
12. Análise estatística-----	55
RESULTADOS -----	57
1. Estudo I-----	57
2. Estudo II-----	62
DISCUSSÃO -----	65
CONCLUSÕES -----	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	75
APÊNDICES -----	89
1. Dados do Estudo I - Grupo A - CSV (H)-----	89
2. Dados do Estudo I - Grupo A - 16 voluntários sem estresse - CSV (H)-----	90
3. Dados do Estudo I - Grupo A - 18 voluntários com estresse - CSV (H)-----	91
4. Dados do Estudo I - Grupo A - Fluxo Salivar (FS)-----	92
5. Dados do Estudo I - Grupo A - 16 voluntários sem estresse - Fluxo Salivar (FS)-----	93
6. Dados do Estudo I - Grupo A - 18 voluntários com estresse - Fluxo Salivar (FS)-----	94
7. Dados do Estudo I - Grupo B - CSV (H) e Fluxo Salivar (FS)-----	95
8. Dados do Estudo I - Grupo B - pH e "capacidade tampão" (CT)-----	96
9. Dados do Estudo I - Grupo B - Proteína-----	97
10. Dados do Estudo I - Grupo B - Fósforo-----	98
11. Dados do Estudo I - Grupo B - Cálcio-----	99
12. Dados do Estudo II - mulheres sem TPM (controle) - CSV (H)-----	100
13. Dados do Estudo II - mulheres sem TPM (controle) - Fluxo Salivar (FS)-----	101

14. Dados do Estudo II - mulheres com TPM (controle) - CSV (H)-----	102
15. Dados do Estudo II - mulheres com TPM (controle) - Fluxo Salivar (FS)-----	103

ANEXOS -----	105
1. Ficha Clínica-----	105
2. Inventário de Sintomas de Stress (ISS)-----	107
3. Informativo sobre a pesquisa I-----	109
4. Termo de Consentimento e Pesquisa-----	111
5. Informativo sobre a pesquisa II-----	113

LISTAS

LISTAS

1. Lista de figuras

Figura 1. Fases uterinas e ovarianas do ciclo menstrual em relação a densidade uterina relativa-----	42
Figura 2. Monitor de sulfetos (Halimeter), utilizado para quantificação dos CSV no hálito-----	50
Figura 3. Efetuação da quantificação dos CSV diretamente no hálito do voluntário-----	51
Figura 4. Médias das concentrações dos CSV no hálito do Grupo A e dos subgrupos com e sem estresse, uma semana antes da prova, no dia da prova e uma semana após a prova-----	58
Figura 5. Médias das taxas de fluxo salivar do Grupo A e dos subgrupos com e sem estresse, uma semana antes da prova, no dia da prova e uma semana após a prova-----	60
Figura 6. Médias das concentrações dos CSV no hálito das Voluntárias com e sem TPM, nos períodos não-menstrual, pré-menstrual e menstrual---	63

2. Listas de Tabelas

Tabela 1. Índice de secreção da saliva total em repouso e estimulada com parafina, expresso em mililitros por minuto (mL/min)-----	38
Tabela 2. Número de voluntários com e sem estresse crônico do Grupo A--	57
Tabela 3. Médias e desvios-padrão da concentração dos CSV no hálito (ppb), no Grupo A-----	58
Tabela 4. Médias e desvios-padrão da taxa de fluxo salivar (mL/min), no Grupo A-----	59
Tabela 5. Médias e desvios-padrão da concentração dos CSV no hálito (ppb), e da taxa de fluxo salivar (mL/min), no Grupo B-----	60

Tabela 6. Médias e desvios-padrão do pH e da “capacidade tampão” da saliva dos voluntários do Grupo B-----	61
Tabela 7. Médias e desvios-padrão da concentração de cálcio, fósforo e proteína (mg/mL) na saliva dos voluntários do Grupo B-----	62
Tabela 8. Médias e desvios-padrão da concentração dos CSV no hálito (ppb), das voluntárias do Estudo II-----	63
Tabela 9. Médias e desvios-padrão da taxa de Fluxo Salivar (mL/min), do Estudo II-----	64

3. Listas de Abreviaturas

ACTH	hormônio adrenocorticotrópico
CG	cromatografia gasosa
COV	composto orgânicos voláteis
CRF	fator liberador de corticotropina
CSV	compostos sulfurados voláteis
IFN- γ	γ -interferon
Ig	imunoglobulina
IL	Interleucina
ISS	inventário dos sintomas do estresse
LH	hormônio luteinizante
MMPs	metaloproteinases da matriz
mL/min	mililitro por minuto
ppb	partes por bilhão

SNC	sistema nervoso central
SPM	síndrome pré-menstrual
TPM	tensão pré-menstrual

4. Listas de Fórmulas Químicas

H_2S	sulfeto de hidrogênio
CH_3SH	metil mercaptana
$(CH_3)_2S$	dimetil sulfeto
E3M2H	ácido 3 metil-2 hexanóico

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar a relação entre o estresse e a concentração dos compostos sulfurados voláteis (CSV) no hálito bucal. Para tanto, foram avaliadas duas condições estressantes: Estudo I – prova; Estudo II – tensão pré-menstrual (TPM). O Estudo I foi composto de 2 grupos: A e B. O grupo A (34 voluntários), foi subdividido em 18 voluntários com estresse e 16 voluntários sem estresse. As concentrações dos CSV e foram medidas 1 semana antes da prova, no dia e 1 semana após, através do monitor de sulfetos (Halimeter) e o fluxo salivar também foi mensurado. No grupo B (37 voluntários), além dessas análises foram mensurados o pH, “capacidade tampão”, cálcio, fósforo e proteína na saliva. O Estudo II foi composto por 50 voluntárias: 27 mulheres sem TPM (controle) e 23 mulheres com TPM. As mensurações dos CSV e do fluxo salivar foram realizadas nos períodos não-menstrual, pré-menstrual e de menstruação. A análise estatística mostrou que tanto no Grupo A (n=34) quanto no Grupo B (n=37) a concentração dos CSV no dia da prova foi maior ($p<0,05$) enquanto que a taxa de fluxo salivar foi menor ($p<0,05$). Os voluntários com estresse (n=18) e sem estresse (n=16) também apresentaram maiores concentrações de CSV no dia da prova ($p<0,05$), enquanto o fluxo salivar foi menor somente nos voluntários não estressados ($p<0,05$). A análise bioquímica da saliva do Grupo B revelou que o pH foi menor no dia da prova ($p<0,05$), e as demais análises não foram diferentes ($p>0,05$). No Estudo II, as voluntárias sem TPM (n=26) apresentaram maior concentração dos CSV no período menstrual ($p<0,05$). Enquanto nas voluntárias com TPM (n=23) a concentração dos CSV foi maior ($p<0,05$) nos períodos menstrual e pré-menstrual. Já o fluxo salivar não mostrou diferenças ($p>0,05$). Os resultados sugerem que o estresse é um fator pré-disponente da halitose, cujo mecanismo não pode ser explicado somente pela diminuição do fluxo salivar.

Palavras-Chave: Halitose, Compostos Sulfurados Voláteis, Estresse, Fluxo Salivar e Tensão Pré-Menstrual.

ABSTRACT

The aim of study was to evaluate the relationship between stress and volatile sulfur compounds (VSC) present in mouth air. Thus, two stressful conditions were evaluated: Study I – examination; Study II – premenstrual syndrome (PMS). Study I was composed of 2 groups: A and B. Group A (34 volunteers), was divided in 18 volunteers with stress and 16 volunteers without stress. VSC concentrations were measured a week before, on day and a week after the exam using a sulfide monitor (Halimeter) and the salivary flow was measured. In group B (37 volunteers), others analysis as pH, “buffer capacity”, proteins, calcium and phosphorus, in saliva were performed. In study II, fifty women were selected: 27 women without PMS symptoms (control group) and 23 women with PMS symptoms. The measurements were performed during non-menstrual, PMS and menstrual periods. The statistical results showed in both groups A and B an increase of VSC concentration on the exam day ($p < 0.05$) and the salivary flow was lower ($p < 0.05$). Volunteers with stress ($n=18$) and without stress ($n=16$), presented higher VSC concentration on the exam ($p < 0.05$), but there was statistical differences in the salivary flow rate only in the volunteers without stress ($p < 0.05$). The biochemistry analysis of the saliva in group B showed that pH was lower on the exam day ($p < 0.05$), and others analysis were not statistical differences ($p > 0.05$). In study II, the volunteers without PMS symptoms ($n=26$) presented higher VSC concentration in the menstrual period ($p < 0.05$). Volunteers with PMS ($n=23$) showed a greater VSC concentration in both menstrual and PMS periods ($p < 0.05$). Salivary flow rate was not statistically different ($p > 0.05$). The results suggest that stressful conditions can be a predisposing factor for bad breath, and the mechanism cannot be explained only by the decrease of the salivary flow.

Key words: Halitosis or Bad Breath, Volatile Sulfur Compounds, Stress, Salivary flow rate and Premenstrual Syndrome.

INTRODUÇÃO

A halitose ou mau hálito é caracterizado pelo odor fétido emanado através da cavidade bucal (BOGDASARIN, 1986). A halitose pode ser detectada pela concentração dos compostos sulfurados voláteis (CSV) produzidos no interior da boca (TONZETICH & RITCHER, 1964). Os principais CSV responsáveis pelo mau odor são o sulfeto de hidrogênio (H_2S), metil mercaptana (CH_3SH) e dimetil sulfeto [$(CH_3)_2S$] (TONZETICH, 1971).

A halitose possui diversos fatores etiológicos (TOUYZ, 1993). As etiologias bucais podem resultar de doenças periodontais, saburra lingual, impacção alimentar, dieta e diversos fatores que diminuem o fluxo salivar (ROSENBERG & Mc CULLOCH, 1992;). As etiologias não bucais incluem distúrbios no trato respiratório superior e inferior, desordens gastrointestinais, uso de alguns medicamentos e várias doenças sistêmicas (PRETTI et al, 1992; ATTIA & MARSHALL, 1982; SPIELMAN, 1996).

O estresse tem sido citado como um dos fatores etiológicos da halitose (MASSLER, 1951; TÁRZIA, 1991). Porém, a relação entre estresse e halitose não tem sido comprovada quantitativamente através da concentração dos CSV no hálito bucal.

O período pré-menstrual é caracterizado como um período estressante para diversas mulheres (MOOS, 1969), sendo que algumas apresentaram um mau odor bucal durante esta fase (MASSLER, 1951). Enquanto que TONZETICH et al (1978), verificou que as concentrações de CSV variam durante o ciclo menstrual. Entretanto, não foi estabelecido se a TPM como fator estressante pode promover um aumento da concentração dos CSV no hálito.

A redução no fluxo salivar provoca uma maior retenção de células epiteliais, restos alimentares e maior acúmulo de microrganismos (TONZETICH & SPOUGE, 1979). Dessa forma, as bactérias principalmente Gram negativas metabolizam os substratos protéicos, contendo aminoácidos sulfurados como

cisteína, cistina e metionina (McNAMARA et al, 1972), o que explicaria a halitose sob condições de estresse.

BATES & ADAMS (1968) e MORSE et al (1981) observaram que há diminuição do fluxo salivar sob condições de estresse. Porém, não foi correlacionado com a presença de CSV no ar bucal.

Assim, embora na literatura tenha sido encontradas citações a respeito da relação entre estresse e mau hálito, não há trabalhos que comprovem sua existência. Uma primeira tentativa foi feita (KOJIMA, 1996), porém, os dados não foram conclusivos e a metodologia utilizada, avaliava quimicamente os CSV decorrentes do metabolismo salivar bacteriano e não o presente no hálito no momento da análise.

Deste modo justifica-se o presente trabalho, o qual teve como objetivo avaliar a relação entre estresse e a concentração dos CSV no ar bucal.

REVISÃO DA LITERATURA

Neste capítulo são apresentados os trabalhos pertinentes a esse estudo. A revisão da literatura foi subdividida em: 1) Halitose, 2) Estresse, 3) Fluxo salivar, 4) Ciclo menstrual.

1. HALITOSE

1.1. Histórico

A preocupação com a halitose sempre foi considerado um problema de desaprovação social entre os indivíduos de uma sociedade desde gerações ancestrais. E na história antiga, há sempre referência para o fato de muitas pessoas apresentarem mau hálito. Titus Marcus Plautus (254-184 a.C.), dramaturgo romano, classificou o mau hálito entre muitas razões de infidelidade conjugal, "o hálito de minha esposa tem um cheiro terrível, melhor seria beijar um sapo" Plutarco (6-120 d. C.), em sua obra *Escrevendo sobre moralidade*. "Heron de Siracusa foi informado pelo médico sobre o seu mau hálito, o tirano repreendeu sua mulher dizendo: Por que não me advertiste que meu hálito a fere a cada vez que te beijo? Ao que ela respondeu altivamente: Sempre pensei que o hálito de todos os homens tivesse esse terrível odor" (GREIN et al., 1982).

O odor do hálito durante séculos foi considerado um grande recurso diagnóstico, inclusive Hipócrates evidenciava que o nariz era "um guia diagnóstico confiável para várias desordens sistêmicas. No entanto, somente em 1874, quando foi estudada e descrita por HOWE, a halitose passou a ser considerada como uma entidade clínica.

1.2. Definição

O termo halitose é derivado do latim onde a palavra *halitus* significa hálito e o sufixo *osis* uma condição (HINE, 1957). Halitose refere-se a uma alteração do hálito de origem local ou sistêmica caracterizada pela emissão de

odores fétidos pela boca, causando constrangimento tanto para quem a possui como para as pessoas com as quais o indivíduo convive. A halitose também é conhecida como hálito fétido, mau hálito, fedor da boca, feter oris ou feter ex oris (BOGDASARIAN, 1986).

De acordo com a literatura atual o termo halitose vem sendo empregado como sinônimo de mau hálito, referindo-se à um odor fétido emanado pela cavidade oral, sendo o ambiente intra-oral constituído por todas as estruturas da cavidade oral incluindo a língua, tonsilas, palato e a região orofaríngea.

1.3. Importância

A halitose pode ser um fator de restrição social, fazendo com que o indivíduo que a possui evite o contato com outras pessoas e essa preocupação pode reduzir a auto-confiança, interferindo no desempenho de muitas atividades (BOGDASARIAN, 1986).

O medo de possuir tal condição pode gerar neuroses, ou adquirir hábitos como falar com a mão na boca, desviar o rosto quando está conversando próximo à outra pessoa ou fazer uso constante de balas, gomas e colutórios (JOHNSON et al., 1996; BOSY, 1997). A halitose também pode ser de grande importância como exame complementar no diagnóstico de várias doenças, pois a identificação de diferentes odores provenientes da boca pode indicar determinados distúrbios sistêmicos (ATTIA & MARSHALL, 1982).

1.4. Etiologias Bucais

Compostos sulfurados voláteis (CSV)

A halitose originada na cavidade bucal está associada principalmente com má higiene bucal, placa dental, cáries extensas, restaurações mal adaptadas, próteses porosas não higienizadas, impacção alimentar, gengivite, estomatite, periodontite, saburra lingual e carcinoma (TONZETICH, 1977; ATTIA & MARSHALL, 1982).

Foi observado que 56% a 85% de todas as causas da halitose são originadas na cavidade bucal (DELANGUE et al., 1997). O estudo de Van STEENBERGUE (1997) em 20 pacientes reportou que 87% destes tinham na boca a causa da sua halitose, 8% por problemas otorrinolaringológicos e 5% outras causas. E dentre as causas bucais estariam a saburra lingual (41%), gengivite (31%) e periodontite (28%).

A relação entre os CSV e halitose teve início com TONZETICH (1971), o qual mostrou que a saliva quando incubada produz odor fétido e que o sulfeto de hidrogênio, metil mercaptana e em menor extensão o dimetil sulfeto seriam os principais CSV responsáveis pelo mau hálito (TONZETICH, 1977).

A saliva contém restos de células epiteliais, bactérias, contém proteínas, peptídeos e aminoácidos livres. TONZETICH (1977), também verificou que quando a saliva era filtrada e depois incubada produzia pouco CSV em relação à saliva não filtrada.

Os aminoácidos sulfurados que produziram maiores quantidades de CSV, principalmente sulfeto de hidrogênio (H_2S) e metil mercaptana (CH_3SH) foram identificados como a cisteína e metionina (TONZETICH, 1974).

Os CSV produzidos pela incubação da saliva são originados da atividade bacteriana sobre os aminoácidos sulfurados (TONZETICH et al., 1977). Os autores, observaram que a incubação da saliva de pacientes com doença periodontal, produzem rapidamente os CSV constituindo um intenso mau hálito. A saliva de pacientes com doença periodontal produz mais CSV que a saliva de pacientes normais (KOSTELC et al., 1984, YAEGAKI & SANADA 1992, COIL & TONZETICH, 1992). Entretanto, tem sido relatado que doença periodontal não é um pré-requisito na formação de altas taxas de CSV ou na formação de halitose quando mensurado organolepticamente (BOSY, 1994; YAEGAKI, 1995).

A halitose pode ocorrer com qualquer indivíduo, porém, torna-se acentuado quando processos inflamatórios e degenerativos estão presentes, por exemplo, gengivite e periodontite estão quase sempre associados com halitose

(TONZETICH, 1977). Entretanto, os CSV no tecido mole são permeáveis e tóxicos para o tecido conjuntivo gengival (JOHNSON, 1992).

Os principais compostos voláteis encontrados nos exsudatos das bolsas periodontais são sulfeto de hidrogênio e metil mercaptana (HORAWITZ & FOLKE, 1972; SOLLIS-GAFFAR,1980), foram analisadas 79 amostras de exsudatos de bolsas periodontais de diversas profundidades. A coleta dos exsudatos foram feitas com pontas de papéis absorventes e o material era transferido à um recipiente contendo ácido fosfórico e levado ao banho maria à 37° C. A solução obtida foi analisada por cromatografia gasosa. Dos CSV, somente o sulfeto de hidrogênio e metilmercaptana foram detectados na amostra. O sulfeto de hidrogênio foi detectado em uma das nove bolsas periodontais de 1mm, em 10 das 16 de 2mm, em 16 das 20 de 3mm e em todas com mais de 3mm. A concentração de sulfeto de hidrogênio em qualquer bolsa periodontal foi de 1,9 mmol/litro e a concentração de metilmercaptana foi de 0,16mmol/litro e foi encontrada em 20% das amostras.

PERSSON et al., (1990) isolaram 75 espécies de bactérias da microbiota subgengival e analisaram a capacidade de formação de CSV. As bactérias que mais produziram foram as do gênero Peptostreptococcus, Eubacterium, Selenomonas, Centipeda, Bacteroides, e Fusobacterium. A metilmercaptana proveniente da L-metionina foi formada por alguns membros do gênero Fusobacterium, Bacteroides, Porphyromonas e Eubacterium. Quando incubados em soro por 7 dias, o que se mostrou mais potente produtor de sulfeto de hidrogênio, foram *Treponema denticola*, *Bacteroides intermedius*, *Bacteroides loeschii*, *Porphyromonas endodontalis* e *Porphyromonas gingivalis*. As *Porphyromonas* também produziram metilmercaptana no soro e nenhum outro composto foi detectado no soro na presença de L-cisteína e L-metionina.

LANCERO & JOHNSON (1996) examinaram o efeito da metil mercaptana sobre o comportamento das células do ligamento periodontal. Foram analisadas as mudanças em relação ao pH intracelular, proteína total e migração das células. A exposição das células do ligamento periodontal à metil mercaptana por 48

horas diminui o pH intracelular mas não alterou a atividade dos íons sódio/hidrogênio. Esse efeito foi observado em 3 diferentes pacientes. A diminuição do pH foi acompanhado por uma diminuição da proteína total e da maturação das cadeias $\alpha 1$ e $\alpha 2$ de colágeno tipo I. Essa diminuição do pH tem sido associada à inibição da motilidade celular. Já migração celular foi significativamente menor quando exposta à metilmercaptana no período de 24 horas ($p < 0,05$) e não foi no período de 12 horas ($p > 0,05$). A metilmercaptana diminuiu a concentração de proteínas, inibindo a síntese protéica. Estudos anteriores com fibroblastos gengivais tem indicado que metilmercaptana pode inibir as procolágenopeptidases e reduzir o processo de maturação do procolágeno em colágeno (JOHNSON et al., 1992). E as células do ligamento periodontal quando expostas à metilmercaptana tiveram seus níveis de maturação diminuídos ($p < 0,05$).

Em relação aos substratos que contribuem para a formação do mau hálito, a placa dental e saburra lingual se destacaram (TONZETICH & KESTENBAUM, 1969).

YAEGAKI & SANADA (1992), TONZETICH (1977), TONZETICH & NG (1976) e JACOBSON (1973) identificaram que o dorso posterior da superfície da língua é o principal local de produção de CSV e mau hálito. E foi estabelecido que as bactérias anaeróbicas capazes de produzirem CSV estão presentes nesta região (VAN WINKELHOFF et al., 1988; PERSSON et al., 1990).

Porém, o microrganismo por si só não é responsável pela produção do mau hálito, as bactérias devem estar associadas com atividades proteolíticas na cavidade bucal como, *Bacillus subtilus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides melanogenicus*, *Clostridium sporogenes* e *C. histolyticum* (McNAMARA et al., 1972).

1.5. Etiologias Não Bucais

As causas da halitose de origem não bucal tem recebido atenção na literatura odontológica (TONZETICH, 1977; KOSTELC et al., 1984). ATTIA & MARSHALL (1982) agruparam as causas da halitose da seguinte maneira:

Fisiológica: diminuição do fluxo salivar durante o sono: existe um fluxo mínimo de saliva (basal) durante o sono (SCHEYNER et al., 1956). Assim, ocorre putrefação de células epiteliais exfoliadas que permanecem retidas durante esse período e outros debridamentos ocasionando um odor desagradável, o qual desaparece após a higienização oral pela manhã, restabelecendo o fluxo salivar aos valores normais (TÁRZIA, 1991).

Alimentação: o metabolismo de certos alimentos e de bebidas alcoólicas produzem ácidos e outros compostos voláteis que são excretados através dos pulmões. Os principais exemplos são álcool, alho, cebola. Estudos realizados em 1930 e 1940 mostraram que o alho quando introduzido na cavidade peritoneal ou quando esfregado na sola dos pés, o indivíduo exalava hálito de alho (SILVERSTINE, 1936; CROHN & DROSD, 1941). Também foi observado que indivíduos que engoliam cebola ou alho sem mastigar exalavam através do hálito o odor característico (CHERASKIN & LANGLEY, 1956).

Trato respiratório: ATTIA & MARSHALL (1982), descreveram inúmeras desordens do trato respiratório superior e inferior, que podem originar halitose. É importante ressaltar que a maioria das pessoas associam a condição de halitose com disfunções gástricas. Existe uma controvérsia se alterações abaixo da junção gastroesofágica pode causar halitose. Há muitos relatos na literatura que descrevem a halitose associada com carcinoma gástrico, hérnia de hiato e estenose pilórica. Entretanto, há autores que relatam que o mau odor emitido pelo trato gastrointestinal inferior é detectado apenas durante eructações gástricas e vômitos, porque o esôfago está normalmente colapsado (TÁRZIA, 1991).

Doenças sistêmicas (ATTIA & MARSHALL, 1982): As doenças sistêmicas em geral não provocam halitose, mas doenças que apresentam quadros

febris com desidratação e infecções, podem levar à formação de mau hálito. No entanto, algumas doenças produzem odores específicos, como por exemplo, indivíduos com cetoacidose produzem um odor doce ou de fruta, insuficiência hepática produz um odor azedo ou amoníaco (DRUM & MANNING, 1975), pacientes com diabetes (BOOTH & OSTENSON, 1966), insuficiência renal (SIMENHOFF et al., 1977), e cirrose hepática (CHEN et al., 1970; KAJI et al., 1978).

Medicamentos: Algumas drogas podem alterar a sensação de gosto e olfato como sais de lítio, penicilina e tiocarbamida (ERIKSSEN et al., 1975), causando halitose subjetiva, ou ainda podem ser excretadas através do pulmão. Alguns medicamentos antineoplásicos, anti-histamínicos, anfetaminas, tranquilizantes, diuréticos, fenotiaminas e drogas de efeito antropínicos provocam diminuição do fluxo salivar ocasionando mau hálito (LU, 1982).

Desordens neurológicas: Halitose imaginária, halitofobia ou halitose psicossomática: ocorre em pacientes que apresentam alteração no olfato (disosmia) e passam a acreditar que possuem halitose, porém outras pessoas não detectam o fato, esse tipo de halitose é conhecida como halitose imaginária (ROSENBERG, 1990).

GOLDBERG et al. (1985) analisaram 6 casos, onde 4 apresentavam queixa de halitose, e 2 se queixavam de sentir "gosto ruim". Os pacientes foram submetidos a exames de sangue e urina. Foram realizados exames do esôfago, sinus paranasais, avaliações das sensações gustativas e olfatórias. Os resultados de todos exames apresentaram-se dentro dos padrões de normalidade. No entanto, as queixas de halitose persistiam, então os pacientes foram submetidos a uma avaliação psiquiátrica. O resultado dessa avaliação, sugeriu como causa a síndrome olfatória, essa condição parece ser crônica, pois 4 pacientes relataram que eles possuem halitose há mais de 10 anos. Enquanto os outros 6 pacientes, relataram dificuldades de relacionamento social na infância e adolescência. Todos os voluntários relataram dificuldades em namorar, se envolver sexualmente. A avaliação psiquiátrica também revelou paranóia atípica em 5 pacientes. Porém a história médica desses pacientes

revelaram rinorréia, sinusite, dor de cabeça e renite. Assim, os resultados gerais levantam dúvidas se essa condição de halitose e alterações olfatórias são somente de ordem psicogênicas ou estão associadas com desordens fisiológicas gustativas ou ainda outras causas desconhecidas.

YAEGAKI & COIL (1999a) analisaram o perfil psicológico de pacientes com halitose psicossomática. Entre os pacientes com halitose psicossomática há:

1. pacientes que tem halitose imaginária, onde o mau hálito não é detectado.
2. Pacientes que sofrem de halitose com tendências psicossomáticas.

No caso estudado o paciente não aceita o fato de não ter mau hálito. No outro caso o paciente não acredita que o mau hálito foi reduzido ou eliminado após tratamento e continua reclamando que tem halitose, a qual não existe. Esses pacientes acham que as pessoas com quem conversam tapam a boca ou desviam a cabeça devido ao seu mau hálito.

1.6. Métodos de Medida dos CSV

Mensuração Indireta

A mensuração indireta da halitose é realizada através da análise de amostra de saliva incubada (TONZETICH et al., 1967; KOSTELC et al., 1981; KLEINBERG & WESTBAY, 1990). A saliva obtida diretamente da boca produz pouco ou nenhum mau odor, mas após algumas horas incubada in vitro, torna-se evidente o mau odor, o fato se deve a degradação proteica por ação microbiana (YAEGAKI & SANADA, 1992).

Outro método indireto, o qual tem sido empregado com menos frequência, é o mau odor produzido por bactérias isoladas ou meios de culturas (CLAESSON et al., 1990; TONZETICH & MCBRIDE, 1981; PITTS et al., 1983).

KOSTELC et al. (1980) analisaram a saliva de 7 voluntários saudáveis e de 7 voluntários com doença periodontal, a saliva incubada foi analisada por CG. Foram encontrados piridina e metil piridina apenas no grupo com doença periodontal.

KOSTELC et al. (1981) realizaram o mesmo estudo com 13 voluntários saudáveis e 10 com periodontite moderada ou avançada e obtiveram os mesmos resultados.

Auto Avaliação da Halitose

Geralmente, quem possui halitose, não é capaz de detectar o próprio mau odor, porque o indivíduo se adapta à situação (SPOUGE, 1964; TONZETICH, 1977). Há pelo menos 3 métodos pelos quais as pessoas podem tentar se diagnosticar, ou seja, analisar o próprio hálito (ROSENBERG et al, 1995).

1. Colocar as mãos a frente da face expirar o ar através da boca e inspirar pelo nariz, muitas vezes o mau odor pode ser percebido, é muito difícil saber se esta técnica fornece uma estimação objetiva, mas deve ser considerada como um experiência real que pode ocorrer por outras pessoas que estão ao redor.
2. Fazer uso de fio dental, pode alertar o paciente sobre o mau odor, pois o mau odor das regiões interproximais pode contribuir para a condição de halitose.
3. O teste do pulso é realizado, passando-se a língua no pulso e após alguns segundos, cheira-se a região.

ROSENBERG et al. (1995) selecionaram 52 voluntários, os quais foram instruídos para realizar uma auto-análise do odor do hálito. O objetivo desse estudo foi verificar se pessoas com história de halitose (43 voluntários) ou não (9 voluntários) teriam condições de avaliar por si só, a intensidade do mau hálito. Os voluntários apoiavam as mãos na face, expiravam o ar pela boca e inspiravam pelo nariz, foi feita a coleta de saburra lingual e de saliva, as quais também foram analisadas pelos voluntários cheirando-se as amostras. As amostras do ar, da saburra e da saliva foram submetidas à mensuração organoléptica. Testes laboratoriais como o uso do monitor, níveis de cadaverina na saliva e atividade da tripsina pelo teste BANA e testes clínicos como o índice gengival, índice de placa e perfil psicológico. De acordo com os resultados, a auto-avaliação apresentou correlação com a mensuração pelo monitor ($r=0,39$ $p=0,005$), com o índice de placa ($r=0,32$ $p=0,02$)

e com o índice gengival ($r=0,40$ $p=0,003$), apenas quando a amostra da saliva foi analisada, enquanto o ar bucal e amostra de saburra lingual não apresentaram nenhuma correlação com a avaliação feita pelos próprios voluntários. Esses resultados sugerem que os voluntários por si só, não são capazes de avaliarem o próprio hálito.

Mensuração Organoléptica

O método mais simples e comum utilizado para mensurar a halitose é a avaliação organoléptica ou hedônica (TONZETICH, 1977; YAEGAKI & SANADA, 1992; ROSENBERG et al., 1991 a e b; SCHIMIDT & TARBET, 1978; TONZETICH & NG, 1976; PITTS et al., 1983). Trata-se de um método subjetivo, porém é considerado um tipo de referência padrão na mensuração da halitose, pois esse método simula situações cotidianas onde o mau hálito é detectado. No entanto, há diversos problemas relacionados, pois há uma considerável variação entre os examinadores, os quais julgam e estabelecem uma pontuação em relação ao mau hálito (ROSENBERG et al., 1991a; ROSENBERG & McCULLOCH, 1992). Para reduzir as variações entre inter-examinadores, várias pessoas são treinadas em sentir odores e o nível do mau odor é baseado em um score médio, a escala pode variar de zero (0) onde não se constata odor, até uma escala cinco (5) onde se constata um odor extremamente fétido. Alguns estudos utilizaram um osmocópio em conjunto com uma escala baseada na diluição do mau odor a ser detectado (BRENING et al., 1939; BERG et al., 1947).

ROSENBERG et al. (1991 a) realizaram um estudo com 7 examinadores não treinados os quais mediram o odor de 75 voluntários, houve correlação entre os examinadores, entretanto as médias de 2 examinadores não mostraram correlação com o restante. Esse estudo sugere que alguns indivíduos podem responder diferentemente aos vários odores do hálito, e que a mensuração organoléptica pode ser subjetiva quando os examinadores não são treinados.

Cromatografia Gasosa (CG)

Vários estudos tem empregado a utilização da CG na mensuração dos CSV (TONZETICH & RITCHER, 1964; TONZETICH, 1971; TONZETICH, 1977; TONZETICH & NG, 1976; TONZETICH et al., 1978).

A utilização desta metodologia permitiu concluir que o mau hálito está associado primariamente com os CSV. A mensuração por CG tem sido utilizada para demonstrar a redução do mau odor após o uso de colutórios, mecanismos e técnicas de higienização. Através da CG é possível separar e quantificar os gases presentes na cavidade bucal. E a sensibilidade do método permite medir baixas concentrações de CSV.

TONZETICH & McBRIDE (1981) realizaram um estudo com 2 grupos de estudantes saudáveis, sendo que um grupo abandonou a higienização bucal por 30 dias. A mensuração dos CSV foi realizada por CG com detector de chama e análise da saliva foi realizada por CG com espectrometria de massa. Os resultados mostraram que houve um aumento dos CSV no hálito e na saliva do grupo experimental.

SCHIMIDT et al. (1978) verificaram a correlação entre o método de mensuração organoléptica e a CG. Foram selecionados 120 voluntários e separados em dois estudos, os CSV presentes no hálito foram mensurados por CG e por 3 examinadores (organoléptica). Houve significativa correlação entre os resultados organolépticos com os níveis de sulfeto de hidrogênio e de metil mercaptana.

Monitor de Sulfetos

Com o intuito de efetuar a quantificação dos CSV no hálito bucal e de oferecer ao cirurgião-dentista condições de avaliar se seus métodos de tratamento em relação à halitose estão sendo eficazes, foi desenvolvido um aparelho, o qual quantifica em partes por bilhão (ppb) os CSV no ar bucal. Esse aparelho conhecido como monitor de sulfetos (Halimeter), vem sendo utilizado como um novo método nos estudos do mau odor. Em relação à CG, o monitor possui um menor custo e é

portátil. No entanto, o monitor não separa os diferentes CSV e outros compostos voláteis que podem interferir na mensuração (ROSENBERG, 1990).

ROSENBERG et al. (1991 b) utilizaram o Halimeter na mensuração dos CSV de 75 voluntários, os resultados foram comparados com os resultados obtidos por mensuração organoléptica composta por 7 examinadores. A relação entre as metodologias empregadas mostrou correlação significativa ($r=0,603$ $p<0,01$). Essas correlações são comparáveis à obtida por SCHMIDT et al (1978), os quais avaliaram os resultados da mensuração organoléptica com os resultados por CG.

ROSENBERG et al. (1991a) compararam a reprodutibilidade e sensibilidade do Halimeter com a mensuração organoléptica. Foram selecionados 41 voluntários e as mensurações foram feitas em duas vezes com um intervalo de uma semana. Para avaliar a sensibilidade do método, os voluntários foram instruídos para bochechar duas vezes ao dia 0,2% de clorexidina antes de dormir e ao acordar. O Halimeter foi sensível, constatando uma redução dos CSV quando efetuado o bochecho com clorexidina. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por SCHMIDT & TARBET (1978), que mostraram que o monitor (Halimeter) foi suficientemente sensível para detectar a redução dos CSV após tratamento com uma solução antimicrobiana. A reprodutibilidade e sensibilidade do monitor foram compatíveis com os resultados da mensuração organoléptica, e foram consistentes com os resultados observados por SOLIS-GAFFAR et al. (1975); TONZETICH & NG (1976); SCHMIDT & TARBET (1978); KOSTELC et al. (1984), os quais observaram através de mensurações organolépticas que há redução do mau hálito após tratamento com colutórios antimicrobianos.

SHIMURA et al. (1996) desenvolveram um instrumento medidor de CSV no ar bucal. O instrumento contém um sensor semicondutor de óxido de zinco, esse sistema é composto por uma câmara de teflon contendo um gás, e um tubo que absorve a amostra. O gás é alterado por uma válvula eletromagnética e um filtro de sílica - gel ácida remove os compostos orgânicos voláteis como acetaldeído e álcool. O estudo contou com a colaboração de 21 voluntários, o ar bucal foi mensurado

através do instrumento citado, por cromatografia gasosa e por mensuração organoléptica. Houve correlação entre os valores obtidos pelo novo instrumento com os resultados obtidos por cromatografia gasosa ($r=0,75$ $p<0,01$), o mesmo ocorreu quando comparado aos valores obtidos por mensuração organoléptica ($r=0,76$ $p<0,01$). O novo monitor desenvolvido mostrou eficácia compatível à outros métodos.

2) ESTRESSE

2.1. Conceito

SELYE (1936) utilizou o termo estresse pela primeira vez na área da saúde para designar um conjunto de reações não específicas que ele havia observado em pacientes sofrendo das mais diversas patologias.

SELYE (1956) definiu a reação do estresse como uma “síndrome geral da adaptação” e em 1974 ele redefiniu estresse como uma “resposta não específica do corpo a qualquer exigência”.

Com base nos conceitos de SELYE, estresse é definido como uma reação do organismo, com componentes físicos e/ou psicológicos, causadas pelas alterações psicofisiológicas que ocorrem quando a pessoa se confronta com uma situação, que de um modo ou de outro, a irrite, amedronte, excite ou confunda, ou mesmo que a faça imensamente feliz.

A resposta do estresse deve ser entendida como sendo um processo e não uma reação estanque e independente, pois no momento que ela se inicia um longo processo bioquímico se instala. Independentemente da causa da tensão, o início se manifesta de modo bastante semelhante em todas as pessoas, com o aparecimento de taquicardia, sudorese excessiva, tensão muscular, boca seca e a sensação de estar de alerta. Só quando o processo está mais adiantado é que as diferenças se manifestam de acordo com a herança genética do indivíduo combinada com pontos de enfraquecimento desenvolvidos no decorrer da vida (BLALOCK, 1994).

O estresse pode ou não levar a um desgaste geral do organismo dependendo da sua intensidade, tempo de duração, da vulnerabilidade do indivíduo e da habilidade de administrá-lo. O desgaste ocorre de modo mais pronunciado, quando a homeostase interna do organismo é perturbada por períodos longos ou de modo muito agudo (COHEN, 1991).

A importância do equilíbrio interno foi inicialmente ressaltada pelo fisiologista BERNARD (1879), o qual enfatizou o conceito de que ambiente interno de um organismo precisa ser mantido em equilíbrio independentemente do que ocorre no ambiente externo. Mais tarde CANNON (1939), também fisiologista, sugeriu o termo homeostase para definir o equilíbrio que o organismo automaticamente tenta manter a fim de preservar a sua existência. O conceito de homeostase é fundamental para o estudo do estresse, uma vez que a principal ação do estresse é justamente a quebra do equilíbrio interno que ocorre devido ação exarcebada do sistema nervoso simpático e a desaceleração do sistema nervoso parassimpático em momentos de tensão.

A aceleração do organismo, por meio da ação magnificada de determinadas funções é, muitas vezes, de grande valia para a preservação da vida, uma vez que leva o organismo a um estado de prontidão, de alerta, a fim de que possa lidar com situações em que tenha que atuar contra o perigo. Esta reação, quando adequada, deve ser vista como uma defesa automática do corpo. O problema ocorre, no entanto, quanto a prontidão fisiológica não é necessária ou quando é excessiva, por exemplo, quando ocorre tensão muscular durante uma reunião ou em momentos de estresse interpessoal, quando não haveria necessidade de tal preparo (COHEN et al, 1993). O que aciona este processo que leva a mudanças tão sérias no funcionamento do organismo é que SELYE (1936), designou de estressor, para diferenciar a reação do estresse do estímulo que elicia esta reação.

2.2. Estressores, ou fontes de estresse

Qualquer situação geradora de estado emocional forte que leve a uma quebra da homeostase interna e exija alguma adaptação pode ser chamada de um estressor. Deste modo, a adaptação exigida de um ser humano quando ele é promovido, por exemplo, gera desgaste, como também gera desgaste estar envolvido em um litígio.

Existem situações e eventos que são intrinsecamente estressantes, como o frio, a fome e a dor. Esses estressores, chamados por EVERLY (1989) de “biogênicos” não dependem tanto de interpretação e atuam no desenvolvimento do estresse automaticamente. Outros, chamados de psicossociais, no entanto, adquirem sua capacidade de estressar uma pessoa devido a sua história de vida (ELLIS, 1973; LAZARUS & FOLKMAN, 1984; MEICHENBAUM & JAREMKO, 1983). Para que qualquer estímulo atue como um estressor, ele necessita primeiramente ser percebido por receptores do sistema nervoso periférico assim as mensagens são levadas pelos sistemas sensoriais para o cérebro.

De acordo com PENFIELD (1975) uma vez que as mensagens atinjam o sistema nervoso central e o neocórtex os eventos percebidos no meio ambiente são integrados com os estados emocionais codificados no sistema límbico e no hipotálamo. GEVARTER (1978), acrescenta que o resultado desta integração neocortical-límbica é retroalimentada para o sistema límbico com a interpretação emocional. Deste modo, a avaliação de um determinado evento como bom, mal ou amedrontador, depende do valor e da interpretação que o sistema límbico lhe oferecer.

O evento em si, percebidos pelos órgãos sensoriais, é interpretado de acordo com a história de vida do ser humano, de seus valores e de suas crenças. A reação de estresse será assim desenvolvida quando a interpretação sinalizar para o organismo a presença de um evento que exija alguma ação imediata. Nesse caso o corpo age por meio de três eixos: o neural, o neuroendócrino e o endócrino, que

interagem para lidar com o estresse do momento, conforme descrito por Everly (1989).

Uma outra maneira de se classificar eventos estressores é em termos de externos e internos. Os primeiros são constituídos dos eventos que ocorrem na vida de uma pessoa, sejam eles acidentais, mortes, brigas, a situação político-econômica do país, promoção, dificuldade financeira, nascimento de filhos, enfim, daqueles eventos que constam da Escala de Reajustamento Social de HOLMES E RAHE (1967), acrescidos de tudo que ocorre no mundo externo da pessoa, inclusive doenças próprias. Estressores internos refere-se a tudo o que faz parte do mundo interno, das cognições do indivíduo, seu modo de ver o mundo, seu nível de adversatividades, suas crenças, seus valores, suas características pessoais, seu padrão de comportamento, suas vulnerabilidades, sua ansiedade e seu esquema de reação à vida.

Um outro estressor externo que vem recebendo mais atenção dos pesquisadores é o que se refere à profissão da pessoa, denominado de estresse ocupacional. Tem-se reconhecido que trabalhar após certa idade pode constituir em fator de estresse para idosos conforme verificado por NACARATO (1995) que comparou grupos de idosos que continuavam trabalhando com um grupo que não tinham atividades obrigatórias. Foi verificado que a maioria dos idosos tinha sintomas de estresse, independente de estarem exercendo atividades regulares ou não, porém aqueles que o faziam tinham um nível de estresse mais alto que os outros.

2.3. Fases do estresse

Uma vez que a reação do estresse é eliciada, não importa que tipo de estressor a iniciou, isto é, a adrenalina gerada pela necessidade da pessoa se adaptar a uma promoção no emprego, não difere da adrenalina produzida por um acidente. Esta adrenalina ficará no organismo por um tempo determinado causando quebra da homeostase. É por isso que uma série de bons eventos podem levar a pessoa ao

estresse. Naturalmente, se os eventos estressantes são interpretados como benéficos, a ação do estresse terá um fim mais rápido, pois não será mantida por cognições geradoras e mantenedoras de tensão (LIPP & GUEVARA, 1994).

Fase de alerta

Quando a pessoa se confronta inicialmente com um estressor, uma reação de alerta se instala e o organismo se prepara para o que CANNON (1939) designou de “luta ou fuga”. Se o estressor tem uma duração curta, esta fase termina após a eliminação da adrenalina e a restauração da homeostase. É nesta fase que a produtividade aumenta e se a pessoa sabe administrar o estresse ela pode usá-lo a seu favor devido à motivação, entusiasmo e energia que esse estágio do estresse produz. O estado de alerta, no entanto, não pode ser mantido por muito tempo (LIPP & GUEVARA, 1994).

Fase de resistência

Se o estressor perdura ou se ele é de uma intensidade excessiva, mas não letal, o organismo por meio da sua ação reparadora, tenta restabelecer o equilíbrio interno. Nesta fase a pessoa automaticamente utiliza toda a energia adaptativa para se reequilibrar. Quando o conseguir, os sintomas iniciais desaparecem e a pessoa tem a impressão de que está melhor. Dois sintomas, que muitas vezes passam despercebidos, aparecem de modo bastante freqüente nesta fase; a sensação de desgaste generalizado sem causa aparente e dificuldades com a memória (SHERIDAN et al., 1994).

Quando o organismo está se aproximando do fim da fase de resistência várias doenças podem se manifestar, tais como, herpes simples, psoríase, picos de hipertensão e até o aparecimento de diabetes nas pessoas geneticamente predispostas a ele (COHEN, 1991). Em outras, verifica-se retração gengival, gripes, tonturas, sensação de estar levitando e redução da libido (COHEN et al, 1993).

Fase de exaustão

Quando um estressor perdura mais ainda, ou quando outros estressores ocorrem simultaneamente, o processo do estresse evolui, há um aumento das estruturas linfáticas, a exaustão psicológica em forma de depressão normalmente ocorre e a exaustão física se manifesta, doenças começam a aparecer e em alguns casos a morte pode ocorrer (LIPP & GUEVARA, 1994).

Na fase de exaustão, ou quando ela está próxima, as doenças ocorrem com muita frequência, tanto na área psicológica em forma de depressão, ansiedade aguda, incapacidade de tomar decisões, vontade de fugir de tudo, auto-dúvida, irritabilidade; como na área física, na forma de hipertensão arterial essencial, úlceras gástricas e outras. Naturalmente o estresse não é o elemento patogênico dessas doenças, ele leva a um enfraquecimento do organismo de tal modo que aquelas patologias programadas geneticamente se manifestam devido ao estado de exaustão presente (LIPP & GUEVARA, 1994).

O estresse não causa, por exemplo, o diabetes, mas ele pode estar presente na sua ontogênese por facilitar o seu desenvolvimento em pessoas propensas a ele. A doença que surge depende de uma série de fatores, como raça, idade, constituição genética, acidentes ou doenças no passado, alimentação e condição física, no geral (COHEN et al, 1991).

2.4. Contribuição do estresse para a patogênese de doenças

O estudo das causas das doenças tem demonstrado que não se pode atribuir a um só fator a responsabilidade pelo desenvolvimento das mesmas. Acredita-se que muitas doenças sejam resultantes da interação entre fatores genéticos, ambientais, patofisiológicos e psicológicos, incluindo o estresse, em sua fase de exaustão.

Segundo SELYE (1956) a generalização da resposta de estresse pode ser realizada por meio de dois grandes sistemas coordenadores: o endócrino e o nervoso. Uma vez que o estímulo seja percebido pelos órgãos sensoriais do sistema

nervos periférico, os impulsos são enviados ao cérebro e são integrados com estados emocionais codificados no sistema límbico. Ainda no cérebro, especificamente no neocórtex, onde ocorre a interpretação cognitiva do estímulo, que é acrescida da integração afetiva do sistema límbico. Se essas duas interpretações do estímulo psicossocial associadas produzirem uma percepção de desafio ou for aversiva, resultará em um estímulo emocional que desenvolverá a resposta de estresse. Esta reação envolve um ou mais dos três eixos psicossomáticos do estresse: o neural, o neuroendócrino e o endócrino (EVERLY, 1989).

O eixo neural é o mais direto dos caminhos do estresse manifestando somaticamente, por meio do hipotálamo, sua ativação dos ramos simpáticos e parassimpáticos do sistema nervoso autônomo, passando pela medula espinhal e inervando o órgão final. Quando a ativação neural é feita via sistema simpático ela tem como efeito generalizada estimulação no órgão final. Já ativação via sistema parassimpático é relacionada à inibição, lentidão e funções retrativas. Os dois tipos de efeitos são observados na resposta de estresse (EVERLY & ROSENFELD, 1981). Embora os efeitos da ativação deste eixo sejam imediatos, eles não são potencialmente crônicos.

No caso da situação de estresse perdurar por um período longo um outro eixo psicofisiológico é ativado: o neuroendócrino, que gera a reação de “luta e fuga” descrita por CANNON (1953).

No processo neuroendócrino o órgão pivô na resposta de luta ou fuga é a medula adrenal, que produz catecolaminas (adrenalina e noradrenalina). Esta resposta é vista como uma mobilização do corpo, preparando-o para a batalha física contra o estressor percebido, origina-se no complexo amigdalino, desce para o hipotálamo e continua para ativar a medula das glândulas supra-renais (ROLDAN et al., 1974). O resultado desta estimulação é um aumento generalizado da atividade adrenérgica somática (FOLKOW & NEIL, 1974). Os efeitos das catecolaminas medulares duram mais que os efeitos do eixo neural, mas existe um terceiro eixo que é responsável por uma fase ainda mais crônica na resposta do estresse. Este eixo é o

endócrino, subdividido em eixos: adrenal-cortical, somatotrópico, tireóide e pituitário-posterior.

LEVI (1972) afirmou que o eixo endócrino requer grande intensidade de estimulação para ser ativado. EVERLY (1989) afirmou que esta ativação pode ocorrer nos seres humanos devido a numerosas e diversas influências psicológicas, incluindo vários estímulos psicosociais. Sua ação se origina no complexo do hipocampo. Assim, daí os impulsos neurais descem para a glândula pituitária, que por sua vez produz vários hormônios que estimulam determinados órgãos-alvos. A ativação desses órgãos geram sintomas e sinais clínicos que tornam possível o diagnóstico do estresse.

2.5. O sistema neuroendócrino

A idéia de fatores psicológicos poderem participar no desenvolvimento de doenças é bastante antiga. Durante 10 a 15 anos atrás, pesquisas preocupadas com a relação entre sistema nervoso, comportamento e imunidade expandiu-se rapidamente. Pesquisas recentes tem fornecido evidências, que substâncias químicas mensageiras, liberadas pelos nervos (neurotransmissores e neuropeptídeos); glândulas endócrinas (hormônios e células imunes, citocinas e hormônios peptídicos), constituem uma informação bioquímica no sistema neuroendócrino e imune. Foi mostrado também que as substâncias liberadas por estresse emocional pode influenciar na atividade imune resultando no aparecimento de doenças (COHEN, 1991 e SHERIDAN, 1994). Em adição, estudos psicológicos e psiquiátricos tem mostrado que estados afetivos negativos podem influenciar resultando no aparecimento de doenças infecciosas (COHEN et al., 1993; McCLELLAND et al., 1980).

2.6. Estresse e imunomodulação

Respostas fisiológicas para situações estressantes tem mostrado modular o sistema imune através do sistema neural e endócrino de 3 maneiras diferentes:

1. através do Sistema Nervoso Autônomo.
2. Através da liberação de hormônios hipotalâmicos e pituitários.
3. Através da liberação de neuropeptídeos.

Os tecidos do sistema imune são inervados por fibras do sistema nervoso autônomo simpático. O estresse emocional resulta na liberação de noradrenalina e adrenalina nas células da medula supra renal. A adrenalina e noradrenalina interagem com os receptores adrenérgicos, os quais produzem efeitos metabólicos e cardiovasculares.

O sistema nervoso simpático também regula a atividade imune das células. A evidência da estimulação simpática no sistema imune é genericamente aceita. Fibras noradrenérgicas estão presentes nos tecidos imunes, as células do sistema imune tem receptores adrenérgicos e a liberação de noradrenalina resulta na resposta imune. Tratamentos de animais com 6-hidroxiopamina, uma toxina que lesa os neurônios noradrenérgicos, reduz a resposta de anticorpos aos antígenos (FELTEN et al, 1993). A estimulação adrenérgica promove a diferenciação e maturação de células T, e a produção de anticorpos pelas células β / células plasmáticas (FELTEN et al., 1993).

A estimulação parassimpática do sistema imune é menos pronunciada, mas os receptores colinérgicos são encontrados nas células epiteliais do timo, do osso e nas células T (McCLELLAND et al, 1980)

Durante a resposta do estresse, os centros superiores do sistema nervoso central liberam corticotropina e arginina vasopressina do hipotálamo, os quais agem na hipófise liberando o hormônio adrenocorticotropina (ACTH) na circulação. O ACTH então, age no córtex da adrenal causando a produção e liberação de hormônios glicocorticóides.

Dois outros hormônios do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal, FLC e ACTH, também modulam separadamente a atividade do sistema imune. O FLC estimula a produção de citocinas, tal como interleucina-1 (IL-1) pelos monócitos. Ele aumenta a proliferação de células T, estimulando a liberação do IL-2 e atua nos

receptores IL-2 sobre as células T. O ACTH inibe a produção de γ -interferon (IFN- γ) pelas células T e inibe os receptores IFN- γ nos macrófagos, bloqueando a ativação dos macrófagos pela citocina. O ACTH também promove proliferação de células β , mas inibe a produção de anticorpos (SHAVIT et al, 1984).

Os hormônios do eixo pituitário-gônada são geralmente inibitórios, mas podem estimular algumas resposta imunes. O hormônio do crescimento, prolactina e hormônios do eixo pituitário-tireóide, geralmente estimulam a função imune. O hormônio prolactina mostrou ser um importante imunorregulador com efeitos no sistema humoral e imunidade das células através de receptores específicos da prolactina sobre vários tipos de leucócitos.

Outros receptores específicos para mediadores neuroendócrinos como o ACTH, peptídeo intestinal vasoativo, substância P, hormônio de crescimento, hormônios esteróides e catecolaminas, tem sido identificados em células imunocompetentes. Então, o sistema imune pode ser considerado como um órgão endócrino, o qual pode se comunicar com o sistema endócrino e o cérebro através das citocinas e hormônios peptídeos.

Os neuropeptídeos liberados pelas fibras peptidérgicas também modulam a atividade do sistema imune e da liberação de citocinas, incluindo a substância P, somatostatina, peptídeos opióides endógenos e fator de crescimento. Entre esses neuropeptídeos a substância P secretada pelas fibras sensoriais do tipo C podem ser de particular interesse de reações imunes na gengiva e periodonto (GYÖRFI et al., 1994), quando acometidos pela placa dental bacteriana (LAURENZI, 1989).

2.7. Substância P e imunomodulação

Uma das principais funções da substância P é a transmissão dos sinais da dor. A substância P está presente nos tecidos gengivais e periodontais em íntimo contato com o plexo vascular penetrando no epitélio (GYÖRFI et al., 1994). A substância P causa vasodilatação e aumenta o fluxo sanguíneo nos capilares gengivais/periodontais (FAZEKAS et al., 1990), e também intensifica a

permeabilidade vascular na gengiva após estímulo bacteriano e outros. Com a permeabilidade aumentada, a passagem das células imunes é facilitada para proteger e sanar as injúrias teciduais.

A substância P estimula as células imunes diretamente, via receptores específicos e produz numerosos efeitos relatados com inflamação e imunidade. A substância P estimula a quimiotaxia dos neutrófilos intensificando a atividade fagocítica dos leucócitos e macrófagos, e estimula a proliferação de células T e a produção de anticorpos provenientes das células β / células plasmáticas. A substância P promove a liberação de IL-1 pelos macrófagos e regulam a proliferação dos fibroblastos gengivais, geralmente é inibitório em altas concentrações e estimulatório em baixas concentrações.

Tem sido mostrado que a substância P estimula as células imunes somente quando combinada com outras substâncias, por exemplo, o efeito da substância P na secreção de anticorpos das células β é efetiva só quando antígenos bacterianos estão presentes ao mesmo tempo, isso é verdade nas situações de gengivites/periodontites, as quais são caracterizadas por estimulação antigênica contínua das bactérias.

A liberação periférica de substância P é regulada por hormônios estressores como β -endorfina, noradrenalina, somatostatina, hormônio de crescimento e prolactina. Os resultados desses hormônios, neurotransmissores e neuropeptidérgicos sobre a gengiva/periodonto ainda são incertos. Entretanto, tem sido observado que o bloqueamento da liberação de substância P reduz a inflamação e mobiliza as células imunes em animais com periodontites (GYÖRFI et al., 1994). Assim, hipoteticamente o estresse pode aumentar a liberação de substância P, resultando na intensificação das reações inflamatórias.

2.8. Doença gengival/periodontal, defesa imune e estresse emocional

A gengiva e o periodonto são protegidos contra a inflamação de diversas maneiras. Há muitas substâncias antibacterianas presentes na saliva como a mucina,

aglutininas, lisozimas e peroxidases. A imunoglobulina A presente na saliva é provavelmente o mais importante agente bacteriano. A imunoglobulina (IgA) modula a atividade enzimática bacteriana, aglutina bactérias e inibe a aderência nas células epiteliais e nos dentes. Entretanto, apesar da presença de fatores antimicrobianos, às vezes ocorre um desequilíbrio entre o parasita e o hospedeiro. Aumentando o volume da placa, ocorre destruição da barreira epitelial podendo causar uma mudança levando ao desenvolvimento de bolsa periodontal, com a proliferação de microrganismos patogênicos (MARSH & MARTIN, 1992).

Estudos tem mostrado que o estresse emocional pode também influenciar no sistema imune e na produção de IgA (McCLELLAND et al, 1985). Então o estresse pode influenciar no equilíbrio parasita/hospedeiro.

A resposta imune no tecido gengival ocasionado pelas bactérias e ou produtos bacterianos causa destruição tecidual local, mediada através da liberação de citocinas pelas células imunes ativadas (BIRKEDAL-HANSEN, et al, 1993). Essas citocinas podem estimular células teciduais para produzir enzimas proteolíticas chamadas de metaloproteinases da matriz (MMPs), as quais degradam componentes teciduais. As MMPs são uma família endopeptidases dependente de zinco, como as collagenases que são produzidas por vários tipos de células. As MMPs conjuntamente clivam a maior parte dos constituintes da matriz extracelular (BIRKEDAL-HANSEN, et al, 1993). As células do tecido conjuntivo remodelam os tecidos gengival/periodontal, porém os fibroblastos através da ativação por uma inflamação podem ocasionar degradação tecidual (BIRKEDAL-HANSEN, et al, 1993).

Quando o indivíduo é submetido a um estado de estresse agudo, aumenta o número de células imunes no plasma. Uma amostra de sangue coletada imediatamente antes e após uma situação de estresse agudo, como em um salto de paraquedas, apresenta uma concentração de linfócitos T extremamente aumentada, mas uma hora depois os níveis voltam aos valores basais, os níveis plasmáticos de

IgM e IgG também apresentam-se elevados em situações de estresse agudo (ENDRESEN, 1992).

É interessante notar que as células Th1 preferencialmente produzem citocinas, como IL-2 e IFN γ , promovendo respostas imunes. Estas respostas são contra agentes intracelulares como vírus e células cancerosas. As células Th2, produz IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10 e citocinas, as quais ativam as células β , promovendo a ação dos granulócitos, eosinófilos e respostas imunes, protegendo o organismo.

Foi observada a predominância das células Th2 após um estímulo estressor, resultando na produção de anticorpos, podendo então ser considerado como outro importante mecanismo de proteção contra injúrias e antígenos.

Atualmente o estresse é considerado o mais importante fator pré-disponente da GUNA (MURAYAMA et al, 1994). Em um estudo com 50 pacientes houve significativa correlação entre o nível de estresse dos pacientes e doença periodontal (GREEN et al, 1986). Outro estudo também mostrou uma correlação positiva entre ansiedade e doença periodontal (MILLER et al, 1986).

Entretanto os estudos relacionando os eventos estressores e problemas odontológicos são poucos, e o mecanismo de interação psicofisiológica ainda requer grande número de pesquisas.

3) Saliva

3.1. Introdução

A saliva é a combinação dos fluidos presentes na boca. Esse fluido é composto a partir das diferentes glândulas, juntamente com restos alimentares, microrganismos e células que descamam do epitélio oral. Em condições de repouso, o fluxo da glândula parótida encontrará o meio bucal na altura dos molares e pré-molares superiores. A secreção proveniente das glândulas submandibular e sublingual, que possuem um ducto de saída comum no meio bucal, compõe a parte

principal do fluido acumulado no assoalho e na região lingual da boca. A secreção, que predominará no palato duro e lábios, será proveniente das glândulas salivares menores. A saliva desempenha um papel importante na manutenção das condições fisiológicas normais dos tecidos orais. Contém inúmeros importantes sistemas antimicrobianos, juntamente com proteínas que ligam o cálcio e eletrólitos com propriedades de tamponamento.

Quando a eficiência de um sistema como esse é perdida por alteração das funções glandulares, o risco de iniciação de cáries aumenta. Em situações extremas, onde quase ou todas as funções glandulares foram perdidas, condições como sintomas de boca seca ou xerostomia aparecem (THYLSTRUP & FEJERSKOV, 1994).

3.2. Secreção Salivar

A saliva possui baixas concentrações de proteínas e eletrólitos. A concentração de proteínas na saliva é da ordem de 0,1% a 0,2%, enquanto que a concentração no soro é de 7%. A concentração dos diferentes componentes na saliva varia de acordo com o grau e o tipo de estimulação. A composição é afetada diferentemente por estímulos mastigatórios, gustativos e neurológicos. A relação entre composição da saliva e estimulação de diferentes receptores é complexa, no entanto, a estimulação de receptores parassimpáticos, geralmente leva a uma secreção de água e eletrólitos, enquanto a estimulação de receptores simpáticos leva a um aumento na secreção de proteínas (EDGAR & O'MULLANE, 1996).

O aumento da concentração de imunoglobulinas (IgA) sob condição de estresse, foi verificado por McCLELLAND et al (1985), a condição de estresse estabelecida foi a realização de prova, a saliva foi coleta logo após a prova e 1h45min depois, a análise da saliva mostrou elevados níveis de noradrenalina e IgA. Dessa forma, pode-se confirmar que a prova estimula a atividade adrenérgica e diminui a atividade do sistema imune.

Em 1993, SOMER et al observaram aumento da concentração de proteína em pacientes estressados, quando comparado ao controle, no entanto, não foi observado aumento de IgA como nos demais trabalhos, o estresse avaliado foi uma situação de estresse crônico e não agudo, talvez o aumento de IgA seja constatado somente em condições de estresse crônico.

O estudo de BOSCH et al (1996), também mostrou que a composição salivar pode sofrer influência do estresse psicológico, foram coletadas amostras de saliva não estimulada de 28 estudantes de odontologia 10 minutos antes da prova, e 2 a 6 semanas após a prova. A concentração de proteína total aumentou no dia da prova, assim como na atividade da α -amilase, e na concentração de IgA. A agregação bacteriana (*Streptococcus gordonii*) diminuiu ($p < 0.01$) no dia da prova. Esses dados sugerem que o estresse agudo exerce influência na composição e função salivar. A redução da agregação bacteriana pode estar associada com a relação entre estresse e alteração da saúde bucal.

A saliva, além de apresentar uma grande variedade de componentes, pode conter alguns tipos de proteínas características de outras regiões do corpo, como observaram SPIELMAN et al (1996), que o odor característico da axila humana é produzido principalmente pelo ácido volátil 3-metil-2-hexenóico (E-3M2H), o qual é proveniente da hidrólise da proteína apócrina. Essa proteína é formada na região das axilas pelas glândulas apócrinas. Porém, quando outros fluidos corpóreos foram analisados como lágrima, secreção nasal e saliva, estes demonstraram a formação do ácido E-3M2H, e o padrão eletroforético das proteínas que produziram esse ácido na saliva foi o mesmo da proteína apócrina.

3.3. Fluxo salivar

O principal fator que afeta a composição da saliva é o índice de fluxo salivar. À medida que o fluxo aumenta, as concentrações totais de proteína, sódio, cálcio, cloreto e bicarbonato aumentam em níveis variados, ao passo que as concentrações de fosfato e magnésio inorgânicos diminuem. A composição da saliva

também depende da duração do estímulo. A saliva colhida durante os primeiros minutos possui uma composição diferente da colhida após 15 minutos de estímulo constante. Por exemplo, as concentrações de cálcio e proteína aumentarão consideravelmente durante o estímulo prolongado (THYLSTRUP & FEJERSKOV, 1994).

O fluxo é o parâmetro clínico mais importante da saliva afetando a suscetibilidade às lesões de cárie. A mensuração do fluxo salivar (sialometria) é indicada:

1. Como parte do exame inicial de um paciente a receber tratamento para a doença cárie;
2. Durante a avaliação de um determinado tratamento profilático e terapêutico da doença cárie, para obter informações de como o procedimento geral afetou a saúde bucal;
3. Como parte dos procedimentos de diagnóstico de suspeita de hipossalivação, causada, por exemplo, pela síndrome de Sjögren ou por irradiação na região da cabeça e pescoço.

Tabela 1. Índice de secreção da saliva total em repouso e estimulada com parafina, expresso em mililitros por minuto (mL/min):

	Hipossalivação	Baixo	Normal
Saliva em repouso	<0,1	0,1 - 0,25	0,25 - 0,35
Saliva estimulada	<0,7	0,7 - 1,0	1,0 - 3,0

BATES & ADAMS (1968), avaliaram a influência do estresse sobre o fluxo salivar. A mensuração do fluxo salivar foi realizada em estudantes imediatamente antes da realização de prova no período da manhã (1ª série) e no período da tarde (2ª e 3ª séries), e uma semana após a realização da prova a coleta foi feita novamente (controle). A saliva foi estimulada e não estimulada. Os

resultados mostraram, que no período da manhã (1ª série), o fluxo salivar não foi diferente no dia da prova ($p > 0,001$), na saliva não estimulada. Porém, na saliva estimulada houve diferença significativa ($p < 0,001$) no dia da prova em relação a uma semana após, no mesmo grupo. No período da tarde (2ª série) foi menor nos dois métodos de coleta. Na 3ª série foi menor quando a saliva foi estimulada e não houve diferença quando a saliva não foi estimulada, ou seja, foi observado uma diminuição do fluxo salivar no dia prova, mas não foi possível concluir qual o método mais adequado de coleta de saliva em estudos com indivíduos submetidos à estresse emocional.

MORSE et al. (1981) realizaram um estudo piloto para avaliar o efeito do estresse sobre o fluxo salivar em pacientes submetidos a tratamento endodôntico. Foram obtidas as amostras de 34 pacientes, antes e após o tratamento. Os resultados do exame visual da saliva mostraram diferença entre antes (opaco) e pós-tratamento (translúcido). Antes do tratamento, o volume da saliva foi menor, enquanto a concentração de proteína foi maior. No entanto, esses resultados apresentam muitas variáveis que podem ter alterado o fluxo salivar, como o próprio tratamento endodôntico que envolve o uso de anestésico, de sugador, etc. O exame visual da saliva pode estar associado, com a ativação do sistema simpático por estresse, e produção de uma secreção salivar viscosa.

SOMER et al (1993), além de observarem aumento da concentração de proteína em pacientes estressados, verificaram que as taxas de fluxo salivar foram menores, esses resultados confirmam que o estresse promove diminuição do fluxo salivar.

Como foi visto, diversos estudos mostraram que o estresse ocasiona alterações tanto na composição quanto no fluxo salivar. Já no estudo de GOLDBERG & ROSENBERG (1996), foi verificado *in vitro*, que o pH atua na produção dos CSV. Os aminoácidos, metionina e lisina produziram menos odor na saliva quando o pH variou de 3,5 a 4,0, sendo que o odor foi mais intenso quando o

pH variou de 5,0 a 8,0, sugerindo que a formação do mau odor pelo metabolismo das bactérias odoríferas é menos efetivo em pH abaixo de 5.

3.4. Hipossalivação

Hipossalivação não é sinônimo de xerostomia (palavra derivada do grego significando “boca seca”), que é um sintoma. A xerostomia depende de vários fatores gerando um condição de ausência de saliva. No entanto, a xerostomia pode causar disgeusia, glossodinia, sialodente, fissuras na mucosa bucal e halitose (ASTOR et al, 1999).

Muitas doenças interferem no fluxo salivar. Existem inúmeras drogas que apresentam a hipossalivação como efeito colateral potencial, sendo que as mais utilizadas são os antidepressivos, diuréticos, anti-histamínicos e narcóticos (THYLSTRUP & FEJERSKOV, 1994).

Algumas doenças sistêmicas combinadas com medicação provocam declínio significativo na secreção salivar. Dentre elas, podemos citar, as doenças reumatóides e auto-ímmunes, como a síndrome de Sjögren, exocrinopatia de auto-imunização e lupus eritematoso sistêmico. O paciente com diabetes melito dependente de insulina, apresenta secreção salivar reduzida durante períodos de desequilíbrio da doença. Desnutrição e anorexia nervosa podem em casos graves e em períodos prolongados, reduzir o fluxo salivar até ao ponto aparecer sintomas bucais. As mudanças hormonais também podem afetar o fluxo salivar e a composição da saliva. Os homens apresentam índice de fluxo mais alto que as mulheres, mas é mais provável que isso seja devido ao tamanho menor das glândulas salivares das mulheres e não devido a fatores hormonais. O índice de fluxo aumenta gradualmente com a idade e há um declínio no índice de secreção durante a gestação (THYLSTRUP & FEJERSKOV, 1994).

4) Ciclo menstrual

4.1. Relação entre Síndrome Pré-Menstrual e Odontologia

Em 1953, GREENE & DALTON propuseram o termo síndrome pré-menstrual, (SPM) e o primeiro a descrever os sintomas que precedem a menstruação e relacionou o fato com o estrógeno foi (FRANK, 1931). Enquanto que ISRAEL (1934), propôs que esses sintomas eram devido a uma deficiência de progesterona..

A tensão pré-menstrual (TPM) pode ser definida como um distúrbio hormonal caracterizado por uma série de sintomas físicos e emocionais. Na mesma fase de cada ciclo, várias mulheres com TPM podem apresentar estados de tensão, depressão, irritabilidade, ansiedade, crises de choro, fadiga, confusão mental, avidez por doces e carboidratos, comidas salgadas, bebidas alcoólicas; ou ainda sintomas somáticos como seios entumecidos e doloridos, dor pélvica, dor de cabeça, aumento de peso, alterações na pele, e muitos outros (MOOS, 1969; LEVER & HAYNES, 1981).

A duração do ciclo menstrual varia de mulher para mulher, considerando um ciclo regulado de 28 dias, o primeiro dia da menstruação que marca o início do ciclo é o dia 1, esta fase do ciclo dura aproximadamente 5 dias. A fase seguinte corresponde à fase de proliferativa que se estende até o período de ovulação, o qual ocorre por volta do décimo quarto (14^o) dia,. Após a ovulação, inicia-se a fase secretória, a qual perdura por duas semanas até a menstruação e assim um novo ciclo se inicia (GUYTON, 1988).

As fases do ciclo menstrual podem ser representadas da seguinte forma:

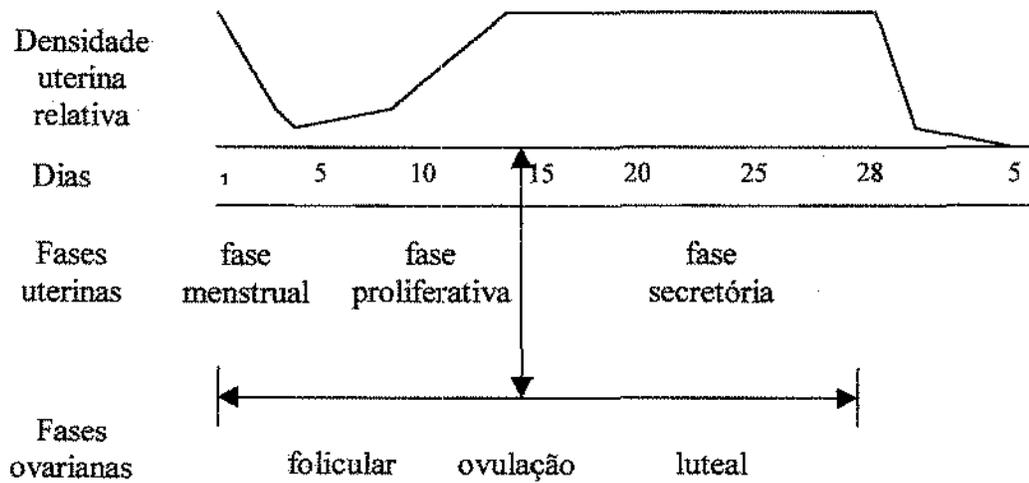


Figura 1. Fases uterinas e ovarianas do ciclo menstrual em relação a densidade uterina relativa.

MASSLER et al. (1951), relatou que algumas mulheres durante o período de menstruação apresentavam mau hálito e que provavelmente, por mudanças hormonais.

Em 1978 TONZETICH et al, demonstraram que a concentração de CSV variava no hálito das mulheres de acordo com o ciclo menstrual. A concentração dos CSV foi comparada aos níveis dos hormônios (estrogênio e LH) presentes na corrente sanguínea e aos níveis de metabólitos orgânicos (ácido láctico e uréia) na secreção vaginal de cinco voluntárias. As mensurações foram realizadas no meio do ciclo \pm 48 horas na ovulação, na fase proliferativa e na fase luteal. Os CSV aumentaram no meio da fase luteal e permaneceram até 3 dias após a menstruação. Houve um aumento na concentração de ácido láctico e úreia na secreção vaginal coincidindo com o aumento dos CSV durante esta fase, já o maior aumento de estrogênio e LH, como era de se esperar ocorreu no meio do ciclo não coincidindo com o aumento dos CSV. Houve maior concentração dos CSV em torno da fase de menstruação. Porém, não é possível concluir que durante a menstruação ocorre

maior concentração dos CSV, como é citado em outros trabalhos, pois o aumento dos CSV perdurou por um longo período, abrangendo o período pré-menstrual, menstrual e não-menstrual (fase proliferativa e luteal).

Em relação ao hormônio estrógeno, ele está diretamente ou indiretamente envolvido na regulação de várias células e tecidos. Baixos níveis de estrógeno durante a menopausa levam à uma progressiva atrofia das células da mucosa, principalmente as epiteliais do trato genital (BARBER, 1988). Esse fato tem sugerido que a mucosa bucal possa responder às mudanças dos níveis de estrógenos causando proliferação e maturação das células epiteliais (MAIN & RITCHIE, 1967).

Nas mulheres que apresentam SPM há um desequilíbrio na produção de hormônios durante o ciclo menstrual, particularmente da progesterona (YEN et al., 1970). A progesterona combinada com tensão emocional (estresse), tem sido apontado como um fator etiológico (NORRIS & SULLIVAN, 1983). Estes mesmos autores observaram que o estresse exacerba a SPM.

A relação entre a descamação do epitélio da mucosa bucal e a do canal vaginal, muitas vezes especulada por diversos autores, foi estudada por QUARANTA et al (1980), foram examinadas 33 mulheres com ciclos regulares. As amostra foram coletadas de ambos os epitélios ao longo do ciclo menstrual. Os resultados mostraram que existe um paralelismo entre os ciclos descamativos da mucosa bucal e vaginal, havendo um maior número de células epiteliais descamadas na mucosa bucal no menstrual.

LEIMOLA-VIRTANEN et al. (1997), avaliaram o efeito do estrógeno na citologia bucal durante o ciclo menstrual e na menopausa. E analisaram a presença dos receptores de estrógeno nas células epiteliais da mucosa bucal usando o método de imunohistoquímica . Os resultados mostraram que todas as células da mucosa indicaram maturação celular praticamente completa, tanto nos indivíduos jovens como as mulheres na menopausa. O estrógeno pode não ser o único fator que altera a maturação celular das células epiteliais da mucosa bucal. Porém o receptor de estrógeno não foi detectado no epitélio.

Foi verificado que durante o ciclo menstrual, o número de bactérias orais presentes na saliva sofre variações (PROUT & HOPPS, 1970) . Os resultados mostraram que houve um aumento tanto de anaeróbicos e aeróbicos durante a menstruação e durante a fase de ovulação. A razão para o aumento durante a ovulação provavelmente é uma conseqüência indireta no aumento dos níveis de hormônios, os quais são conhecidos por aumentar a susceptibilidade à gengivite, já a razão para o aumento do número de bactérias na menstruação é menos clara, mas pode ser reflexo das variações do tecido conjuntivo durante essa fase.

Alguns estudos mostraram que a atividade da fosfatase alcalina na saliva, aumentou durante o período de ovulação (FOSTER et al., 1971; BOYER & FRANCE, 1976), enquanto COCKLE & HARKNESS (1978) não encontraram nenhum aumento. Por outro lado, esses mesmos autores observaram um aumento na atividade das peroxidases na saliva, durante a ovulação, já TENOVUO et al. (1981), observou um aumento na atividade das peroxidases no período de pré-ovulação.

PUSKULIAN (1972) e MARDER et al. (1972) observaram que as amostras de cálcio e sódio diminuíram na saliva submandibular durante o período de ovulação e de gestação, já a concentração de potássio aumentou (PUSKULIAN, 1972).

PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi estabelecer uma relação quantitativa entre estresse e a concentração dos compostos sulfurados voláteis (CSV), pois após o levantamento bibliográfico, chegou-se à conclusão que não há evidências experimentais que comprovem esta relação.

METODOLOGIA

1. Seleção dos Voluntários

Todos os voluntários que participaram do trabalho foram submetidos a uma anamnese e a um exame clínico intra-oral. Os voluntários não deviam apresentar doenças periodontais, cáries, língua saburrosa, não utilizar próteses, não ser respirador bucal, não possuir aftas ou ulcerações na mucosa bucal e não apresentar alterações naso-faríngeas, pois esses fatores podem favorecer a produção de CSV no hálito. Os voluntários, também não deviam utilizar medicamentos e dentifrícios antibacterianos.

2. Considerações Éticas

O estudo foi conduzido após a aprovação, pelo Comitê de Ética e Pesquisa, FOP – UNICAMP. Todos os voluntários receberam um termo de consentimento e declaração (em anexo), explicando sobre a realização do estudo, seus objetivos, informando-os sobre os riscos e benefícios, aos quais estariam expostos, de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras do Conselho Nacional de Saúde (Resolução nº 196/96).

3. Grupos Experimentais

Os voluntários foram analisados em duas diferentes situações estressantes:

- Estudo I – Prova de Bioquímica e Fisiologia.
- Estudo II – Tensão Pré-Menstrual (TPM).

O Estudo I, foi composto de dois Grupos:

- Grupo A: 34 alunos (9 homens e 25 mulheres; 17-30 anos de idade), do 1º ano de graduação e da pós-graduação da FOP-UNICAMP, ano de 1998.
- Grupo B: 37 alunos (10 homens e 27 mulheres; 17-20 anos de idade) do 1º ano de graduação da FOP-UNICAMP, ano de 1999.

O Estudo II, contou com a participação de 50 participantes do sexo feminino (18 - 30 anos de idades).

- 27 mulheres sem TPM (controle), as quais não relataram nenhum tipo de alteração psíquica ou comportamental durante o período pré-menstrual.
- 23 mulheres com TPM, as quais relataram diversas alterações comportamentais, físicas e psíquicas, durante o período pré-menstrual.

4. Delineamento do Estudo

Todos os voluntários apresentaram-se nos dias e horários pré-determinados nas seguintes condições:

- Não ter realizado nenhum tipo de higienização bucal.
- Em jejum de 8 horas.
- Não ter ingerido alimentos condimentados, alho, cebola, salame, pickles, no dia anterior ao experimento.
- Não ter utilizado perfumes, colônias, loção após barba, compostos com derivados alcoólicos, no dia do experimento.

Essas instruções são aplicadas a fim de eliminar o maior número possível de variáveis, pois o aparelho que se utiliza para quantificar os CSV é sensível não somente aos CSV, como também a outros compostos voláteis.

4.1. Aplicação do Questionário

Todos os voluntários responderam um questionário, Inventário dos Sintomas do Stress (ISS - LIPP & GUEVARA, 1994). O questionário avalia se o indivíduo apresenta ou não estresse crônico, em caso positivo, é apontado em que fase a pessoa se encontra, ou seja, na fase de alarme, resistência ou exaustão, além disso o questionário indica a predominância dos agentes estressores, podendo ser de origem física ou psicológica (em anexo).

4.2. Experimento - Estudo I

No grupo A, foram realizadas as medidas dos CSV e em seguida foi coletada a saliva para se obter o fluxo salivar. As medidas foram realizadas nos seguintes períodos:

1. uma semana antes da prova
2. no dia da prova
3. uma semana após a prova.

No grupo B, além das medidas dos CSV e do fluxo salivar, também foi realizada a análise bioquímica da saliva (pH, "capacidade tampão", cálcio, fósforo e proteína), a fim de analisar se uma condição estressante poderia alterar a composição salivar. As medidas foram realizadas 1 semana antes, no dia e 1 semana depois da prova.

4.3. Experimento - Estudo II

No Estudo II as medidas foram realizadas individualmente de acordo com o ciclo menstrual de cada voluntária. O estudo foi realizado de forma que o examinador, o qual efetuava a medida dos CSV e do fluxo salivar, não sabia em qual fase do ciclo menstrual a voluntária se encontrava (cego). Os períodos correspondentes eram calculados por cada voluntária e dessa forma determinava-se uma data para a realização do experimento.

Foram feitas quatro medidas:

1. no período menstrual (as medidas foram feitas em um dos dias do período)
2. no período não-menstrual (1 – 3 dias após o período menstrual)
3. no período não-menstrual (1 – 3 dias antes do período pré-menstrual)
4. no período pré-menstrual (idem ao 1)

Para facilitar a análise dos dados, as duas medidas realizadas dentro do período não menstrual foram expressas como uma única medida através da média aritmética, considerando dessa forma apenas 3 períodos dentro do ciclo:

1. período pré-menstrual
2. período menstrual
3. período não-menstrual

Pois o objetivo do estudo foi analisar a influência do estresse do período pré-menstrual sobre a concentração dos CSV no hálito, o que permitiu separar as fases do ciclo dessa maneira.

Após as medidas os voluntários eram encaminhados à copa da Disciplina de Bioquímica para tomar café da manhã (suco, iogurte, leite, café, chá, pão, presunto, queijo, requeijão, manteiga, bolo, biscoitos e frutas), como proposto e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa, FOP-UNICAMP.

5. Medida dos Compostos Sulfurados Voláteis (CSV)

A mensuração dos CSV foi realizada utilizando-se um aparelho (Halimeter RK17K, nº de série H15248, Interscan Co.), o qual quantifica a concentração dos CSV no ar bucal. A dosagem é realizada pela contagem das moléculas em partes por bilhão (ppb) (Figura 2).

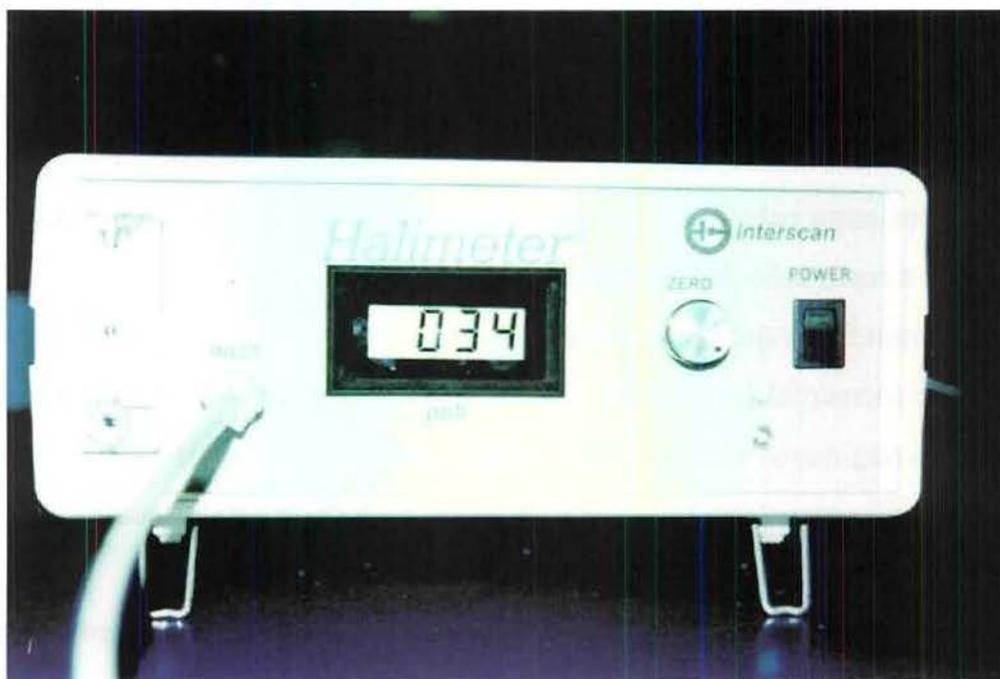


Figura 2. Monitor de sulfetos (Halimeter), utilizado para quantificação dos CSV no hálito.

Uma cânula plástica e descartável de 10 cm de comprimento e 5 mm de diâmetro, era conectada à uma outra cânula plástica e não descartável de 40 cm de comprimento e 7 mm de diâmetro. Esta, por sua vez, é conectada ao aparelho. A outra extremidade é introduzida no interior da boca do voluntário até a altura dos 2/3 da superfície lingual, a cânula no interior da cavidade bucal não deve tocar os tecidos intra-orais. O voluntário permanece com a boca entreaberta aproximadamente 1,5 cm, a respiração é mantida inspirando-se o ar através do nariz e expirando-o pela boca (Figura 3). O ar expirado é levado ao interior do aparelho via cânula por sucção, o ar passa através de um sensor eletroquímico o qual efetua a contagem das moléculas dos CSV presentes na amostra de ar coletado, o valor é expresso em ppb através de um visor digital. Então o valor mais alto é anotado. O tempo do experimento é de aproximadamente 1 minuto por voluntário.



Figura 3. Efetuação da quantificação dos CSV diretamente no hálito do voluntário

6. Medida do Fluxo Salivar

Foi feita a coleta de saliva não estimulada (THYSTRUP & FEJERSKOV, 1994), para todos os Grupos logo após a mensuração dos CSV. Para tanto, um recipiente plástico de aproximadamente 50,0 mL foi pesado em balança analítica ($\pm 0,001\text{g}$). O voluntário deglutia a saliva produzida nos primeiros 30 segundos, e em seguida depositava a saliva produzida durante 5 minutos no recipiente. O voluntário ficava sentado sem conversar, com a cabeça levemente inclinada para baixo, deixando escoar a saliva no recipiente.

O recipiente foi pesado com a saliva e por subtração, obtinha-se o peso da saliva em gramas. O volume da saliva foi determinado diretamente através do recipiente, pois a densidade da saliva é aproximadamente 1g/mL (EDGAR & O'MULLANE, 1996). Assim, o volume foi dividido pelo tempo estipulado, determinando-se então o fluxo salivar.

Para o Grupo B (37 voluntários), a saliva não foi coletada como descrita acima. A saliva foi depositada em uma proveta de 10,0 mL, através de um funil de vidro esterilizado. Durante a coleta, a proveta permaneceu em um recipiente contendo gelo, a fim de evitar a ação enzimática. Após a coleta, retirou-se uma quantidade para medir o pH e a “capacidade tampão”, o restante da amostra foi armazenada em um congelador para posterior dosagem de cálcio, fósforo e proteína.

7. Medida do pH

Foi efetuada colocando-se 1,0 mL de saliva em um tubo de ensaio, determinou-se o pH potenciometricamente utilizando-se eletrodo de pH e potenciômetro Procyon mod. PHIE 800.

8. Medida da “capacidade tampão”

Retirou-se 0,5 ml da saliva coletada, a qual foi colocada em um tubo de ensaio contendo 1,5 mL de HCl 5 mM. Agitou-se o tubo por 1 minuto e após 5 minutos, determinou-se o pH potenciometricamente utilizando-se eletrodo de pH e potenciômetro Procyon mod. PHIE 800.

9. Determinação da Concentração de Fósforo

A determinação da concentração de fósforo inorgânico na saliva foi realizado pelo método de FISKE & SUBARROW (1925), que tem como princípio que o fósforo dos fosfatos minerais é transformado em fosfomolibdato, o qual é em seguida reduzido pelo ácido alfa-amino-naftol sulfônico a um produto de cor azul, cuja intensidade de coloração é proporcional ao teor de fósforo inorgânico presente na amostra. Sendo assim, foram pipetados 0,25 mL de amostra, acrescentou-se 2,05 mL de água deionizada e 0,5 mL de ácido molibdico, agitou-se após 10 minutos, adicionou-se 0,2 mL de redutor, agitou-se novamente e , após 20 minutos , a intensidade de cor foi mediada em um espectofotômetro BECKMAN DU-70 à 660nm.

10. Análise da Concentração de Proteína

Para análise da concentração de proteína na saliva , as amostras foram centrifugadas durante 10 minutos, à 10000g (BEELEY, 1969). Após a coleta do sobrenadante, a concentração de proteína na saliva foi determinada pelo método de LOWRY (1951). Após o preparo das amostras, estas foram lidas em espectofotômetro BECKMAN- DU 70, a 595nm (Figura 5).

11. Determinação da Concentração de Cálcio

A concentração de cálcio nas amostras foi determinada através de espectrofotometria de absorção atômica, um processo pelo qual os constituintes de uma amostra são decompostos e convertidos para partículas atômicas. Para tal utilizou-se um espectrofotômetro Spectro AA – 50/55, sendo as leituras realizadas a 212nm.

12. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste de normalidade acusou a não normalidade para algumas variáveis. Então, foi realizado a análise não paramétrica e paramétrica, considerando que as análises com distribuição normal, quando analisadas por testes não paramétricas, têm o mesmo efeito que o teste paramétrico. Sendo assim, para análise não paramétrica foi aplicado teste de Freedman, pois os dados foram pareados; e para análise paramétrica foi aplicado o teste de Tukey, em um nível de 5% de significância utilizando o SAS¹. Como no teste não paramétrico o que se utiliza é a ordem dos dados na amostra, ou seja, apresentação das medianas sem desvios-padrão, as médias desse estudo correspondente ao teste não paramétrico, foram apresentadas apenas para facilitar a discussão dos resultados.

¹ SAS Institute Inc. – SAS user's Guide Statistics. Version 5 Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc., 1985, 956p.

RESULTADOS

O questionário (ISS), foi aplicado nos dois estudos, porém só foi considerado para o grupo A, pois o objetivo do questionário foi revelar se o grupo era composto por pessoas previamente submetidas a fatores estressantes ou não, no entanto, somente no grupo A houve um número equivalente entre voluntários com estresse (n=18) e sem estresse (n=16) (Tabela 2), pois no grupo B e no estudo II, o número de voluntários com estresse foi muito reduzido, comprometendo o tamanho da amostra, assim consideramos o questionário somente para o grupo A (em anexo).

Tabela 2. Número de voluntários com e sem estresse crônico no Grupo A.

	Voluntários
Com estresse crônico	18
Sem Estresse crônico	16
Total	34

Esse fato permitiu analisar a situação de prova como uma condição estressante aguda, assim sendo, foi possível analisar a influência de uma condição estressante aguda (prova) na concentração dos CSV no ar bucal e a taxa do fluxo salivar, tanto nos voluntários estressados quanto nos voluntários não estressados.

Estudo I

O Grupo A composto por 34 voluntários apresentou um aumento significativo ($p < 0,05$) na concentração dos CSV no hálito, no dia da prova em relação a uma semana antes e uma semana após a prova (Tabela 3, Figura 7).

Quando o Grupo é analisado separadamente, os voluntários estressados (n=18) e os não estressados (n=16), também apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) na concentração dos CSV no dia da prova. (Tabela 3, Figura 7).

Comparando (n=18) com (n=16), eles diferem significativamente no período de uma semana após a prova, sendo que os voluntários estressados obtiveram uma maior ($p < 0,05$) concentração dos CSV (Tabela 3).

Tabela 3. Médias e desvios-padrão da concentração dos CSV no hálito (ppb), no Grupo A.

Voluntários			
Período/Grupo	Total (n=34)	Estresse crônico	
		Sim (n=18)	Não (n=16)
1 semana antes da prova	54,00 ± 28,00	57,33 ± 32,76	50,25 ± 21,91
No dia da prova	94,41 ± 51,27	92,94 ± 65,29	87,56 ± 30,60
1 semana após a prova	57,82 ± 29,07	69,11 ± 34,23	45,13 ± 14,38

Valores conectados entre si diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

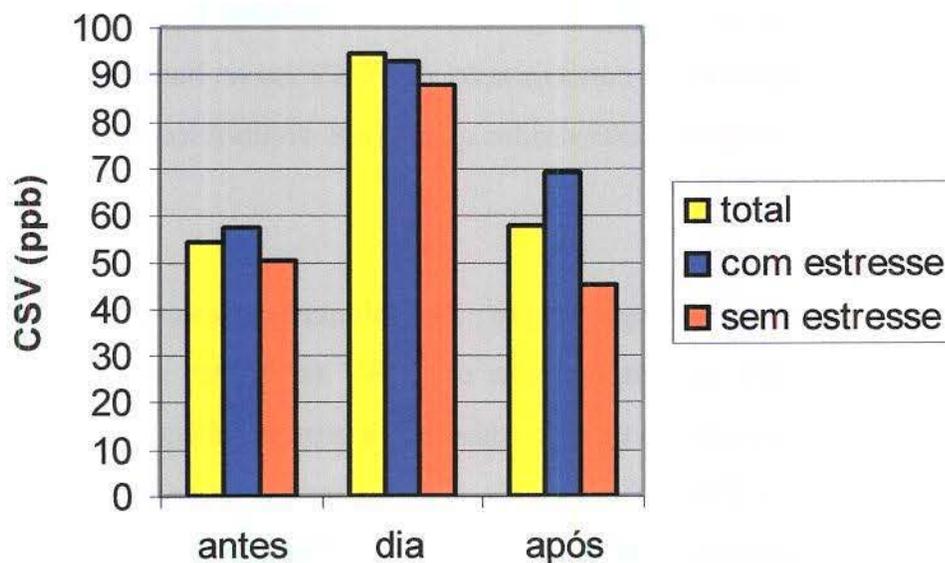


Figura 7. Médias das concentrações dos CSV (ppb) no hálito do Grupo A e dos subgrupos com e sem estresse, uma semana antes da prova, no dia da prova e uma semana após a prova.

A taxa de fluxo salivar do Grupo A (n=34) mostrou uma diminuição significativa ($p<0,05$) no dia da prova em relação a uma semana antes e após a prova (Tabela 4, Figura 8).

No entanto quando o Grupo é analisado separadamente, observa-se que a taxa de fluxo salivar foi estatisticamente menor no dia da prova ($p<0,05$) para os voluntários sem estresse (n=16), enquanto que para os voluntários com estresse (n=18), não houve diferença do fluxo salivar durante os períodos analisados ($p>0,05$) (Tabelas 4, Figura 8).

Tabela 4. Médias e desvios-padrão da taxa de fluxo salivar (mL/min), no Grupo A.

Período/Grupo	Voluntários		
	Total (n=34)	Estresse crônico	
		Sim (n=18)	Não (n=16)
1 semana antes da prova	0,57 ± 0,35	0,48 ± 0,25	0,68 ± 0,41
No dia da prova	0,35 ± 0,22	0,36 ± 0,22	0,34 ± 0,33
1 semana após a prova	0,59 ± 0,42	0,55 ± 0,40	0,63 ± 0,46

Valores conectados entre si diferem estatisticamente ($p<0,05$)

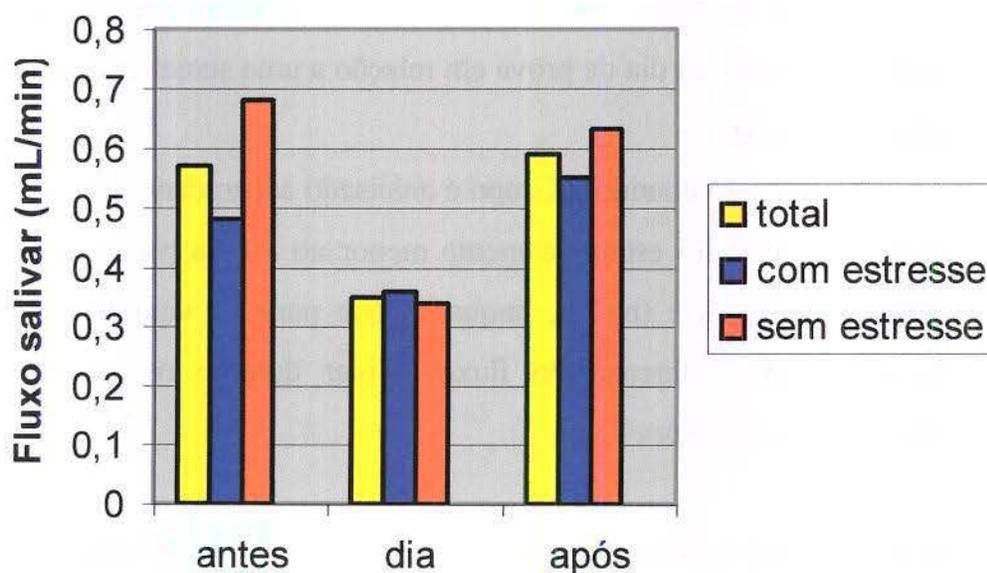


Figura 8: Médias das concentrações dos CSV no hálito do Grupo A e dos subgrupos com e sem estresse, uma semana antes da prova, no dia da prova e uma semana após a prova.

O Grupo B composto por 37 voluntários, confirmaram os resultados do Grupo A. A concentração dos CSV aumentou ($p < 0,05$) e a taxa de fluxo salivar diminuiu ($p < 0,05$) no dia da prova em relação a uma semana antes e após a prova (Tabela 5).

Tabela 5. Médias e desvios-padrão da concentração dos CSV no hálito (ppb), e da taxa de fluxo salivar (mL/min), no Grupo B.

Período	CSV (ppb)	Fluxo (mL/min)
1 semana antes da prova	$91,62 \pm 51,11$	$0,49 \pm 0,22$
No dia da prova	$130,32 \pm 80,10$	$0,28 \pm 0,13$
1 semana após a prova	$89,46 \pm 60,15$	$0,54 \pm 0,23$

Valores conectados entre si diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

No Grupo B a coleta de saliva foi utilizada para analisar também o pH, a “capacidade tampão”, a concentração de cálcio, de fósforo e de proteína, pois como no Grupo A (n=34) a taxa de fluxo salivar foi estatisticamente diferente, mas não foi quando o grupo é analisado separadamente em voluntários estressados (n=18) e não estressados (n=16). Então, levantou-se a hipótese de que a saliva poderia estar sendo alterada não necessariamente quanto ao volume produzido e sim quanto a sua composição.

A análise bioquímica da saliva do Grupo B, mostrou que o pH foi significativamente menor no dia da prova em relação a antes e após a prova, enquanto que a “capacidade tampão” não apresentou diferenças estatísticas durante os períodos analisados (Tabela 6).

Tabela 6. Médias e desvios-padrão do pH e da “capacidade tampão” da saliva dos voluntários do Grupo B.

Período das mensurações	pH	“capacidade tampão”
1 semana antes da prova	7,24 ± 0,37	3,72 ± 0,99
No dia da prova	6,86 ± 0,24	3,88 ± 0,90
1 semana após a prova	7,24 ± 0,35	3,99 ± 0,89

Valores conectados entre si diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

As concentrações (mg/mL) de cálcio, fósforo e proteína, não mostraram-se estatisticamente diferentes ($p > 0,05$) em relação aos períodos das mensurações (Tabelas 7).

Tabela 7. Médias e desvios-padrão da concentração de cálcio, fósforo e proteína (mg/mL) na saliva dos voluntários do Grupo B.

Período das mensurações	Cálcio (mg/mL)	Fósforo (mg/mL)	Proteína (mg/mL)
1 semana antes da prova	20,31 ± 7,46	0,043 ± 0,018	1,84 ± 1,60
No dia da prova	20,91 ± 9,50	0,041 ± 0,013	1,66 ± 0,85
1 semana após a prova	19,24 ± 9,9	0,038 ± 0,024	1,91 ± 1,26

As médias não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$).

Ambos os Grupos apresentaram aumento da concentração dos CSV e diminuição do fluxo salivar no dia da prova. No entanto, não houve correlação entre os CSV e o fluxo salivar antes da prova ($r = -0,06$), no dia ($r = -0,28$) e após a prova ($r = -0,18$).

Estudo II

Os resultados do Estudo II, onde a condição estressante analisada foi a tensão pré-menstrual (TPM), mostraram que no grupo sem TPM (controle), a concentração dos CSV no hálito foi significativamente maior ($p < 0,05$) no período menstrual em relação ao período não-menstrual e ao período pré-menstrual (Tabela 8, Figura 9).

No grupo com TPM, a concentração dos CSV no hálito foi significativamente maior ($p < 0,05$) tanto no período menstrual como no pré-menstrual em relação ao período não-menstrual (Tabela 8, Figura 9). Porém quando analisamos os resultados comparando-se os Grupos, as mulheres com TPM apresentaram uma maior concentração dos CSV ($p < 0,05$) no período pré-menstrual do que as mulheres sem TPM (Tabela 8).

Tabela 8. Médias e desvios-padrão da concentração dos CSV no hálito (ppb), das voluntárias do Estudo II.

Período/Grupo	TPM	
	Não (n=27)	Sim (n=23)
Não-Menstrual	53,89 ± 16,861	56,87 ± 20,63
Pré-Menstrual	54,00 ± 18,84	78,39 ± 38,90
Menstrual	75,00 ± 26,85	81,26 ± 34,43

Valores conectados entre si diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

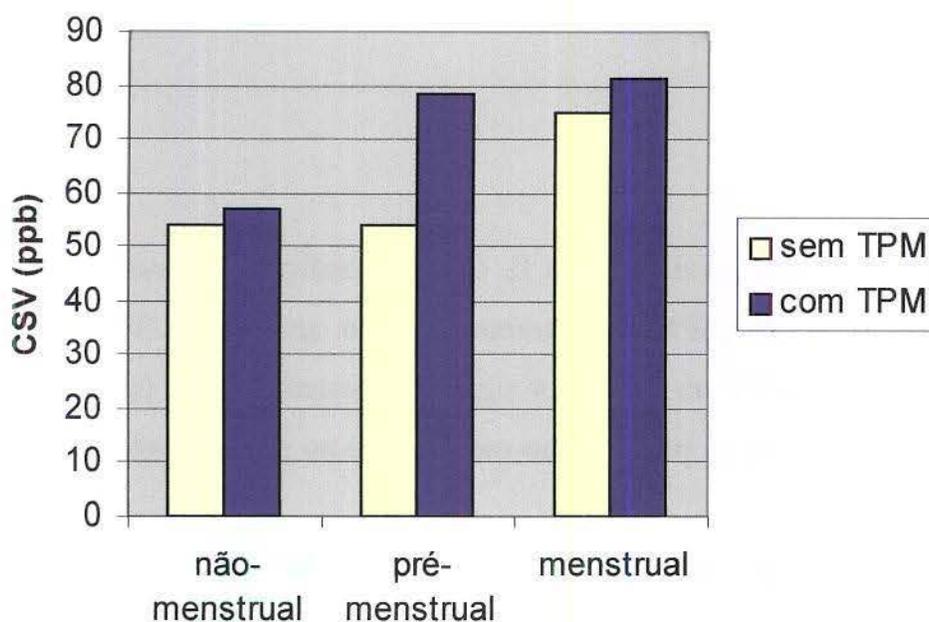


Figura 9. Médias das concentrações dos CSV (ppb), no hálito das voluntárias com e sem TPM nos períodos, não-menstrual, pré-menstrual e menstrual.

As taxas do fluxo salivar no Estudo II não apresentaram diferenças estatísticas ($p>0,05$) em relação aos períodos analisados (Tabela 9).

Tabela 9. Médias e desvios-padrão da taxa de Fluxo Salivar (mL/min), do Estudo II.

Período/Grupo	TPM	
	Não	Sim
Não-Menstrual	0,40 ± 0,29	0,46 ± 0,24
Pré-Menstrual	0,45 ± 0,34	0,53 ± 0,30
Menstrual	0,42 ± 0,27	0,54 ± 0,28

As médias não diferiram estatisticamente ($p>0,05$).

DISCUSSÃO

A halitose é originada principalmente na cavidade bucal (ATTIA & MARSHAL, 1982), e se deve à formação dos CSV à partir da metabolização bacteriana de aminoácidos sulfurados (TONZETICH, 1977). Tem-se discutido muito à respeito das diversas etiologias da halitose, e o estresse também tem sido apontado como um dos fatores responsáveis (MASLLER, 1951; TONZETICH, 1978).

Quando um indivíduo é acometido por um agente estressor, como por exemplo, ansiedade ou medo, essa condição induz a uma diminuição da taxa de fluxo salivar, promovendo uma condição de boca seca (JENKINS, 1978).

No presente estudo, a opção da realização da prova como condição estressante, foi fundamentada de acordo com estudos anteriores que avaliaram o fluxo salivar em seres humanos sob condições estressantes. (BATES & ADAMS, 1968, McCLELLAND, 1985). Já a TPM, é um fator que acomete a maioria das mulheres, desencadeando uma série de sintomas físicos e psicológicos (MOOS, 1969; LEVER & HAYNES, 1981).

O questionário (ISS), foi aplicado nos dois estudos, porém só foi considerado para o Grupo A. O objetivo do questionário foi revelar se os Grupos selecionados eram compostos por pessoas previamente submetidas a fatores estressantes (estresse crônico) ou não. No entanto, somente o grupo A apresentou um número equivalente entre voluntários com (n=18) e sem (n=16) estresse, pois no grupo B e no Estudo II, o número de voluntários com estresse foi muito reduzido (em anexo), comprometendo o tamanho da amostra e como a metodologia empregada apresenta alta variabilidade, consideramos o questionário somente para o grupo A.

O aumento da concentração dos CSV no hálito bucal dos voluntários dos Grupos A e B no dia da prova, juntamente com a diminuição do fluxo salivar, indicam que durante uma situação estressante ocorre uma ativação do sistema nervoso simpático e do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal, ocasionando um aumento

nos níveis de noradrenalina, adrenalina e cortisol na circulação sanguínea (SELYE, 1936; AXELROLD & REISINE, 1984), apesar dos níveis hormonais não terem sido medidos. Essas substâncias, atuam nas glândulas salivares, nos receptores adrenérgicos das células acinares, estimulando a secreção de proteína e não a secreção de fluido, a qual se dá pela estimulação parassimpática (EDGAR, O'MULLANE, 1996). Assim, a taxa de fluxo salivar é menor, pois menos fluido é secretado. Com o fluxo diminuído, ocorre o fenômeno da "boca seca", característico em situações de estresse, esta condição aumenta a retenção de células epiteliais, restos alimentares e microrganismos, os quais servem de substrato para a formação dos CSV (TONZETICH, 1979).

Os nossos resultados estão de acordo com os apresentados por BATES & ADAMS, (1968); MORSE et al., (1981) e SOMER et al, (1993), os quais também observaram que o estresse induz à uma diminuição da taxa de fluxo salivar.

Além da diminuição do fluxo, a produção de CSV, talvez possa ocorrer devido a outros fatores. BOSCH et al (1996), verificaram redução da agregação bacteriana sob condições estressantes (prova). Assim, pode haver um acréscimo da atividade de bactérias proteolíticas, que atuando sobre o substrato que também sofreu acréscimo pela diminuição do fluxo, ocorre intensificação na produção de CSV.

No Grupo A, quando os resultados são analisados entre os voluntários com e sem estresse, é interessante notar que a situação de estresse agudo (prova) aumentou a concentração dos CSV em ambos os voluntários. Os voluntários com estresse crônico mostraram, mesmo não sendo significativo, concentrações de CSV mais altas em todos os períodos, quando comparado aos voluntários sem estresse crônico. Esses resultados podem indicar que indivíduos acometidos por estresse crônico possuem uma taxa mais elevada de catecolaminas no organismo, e quando submetidos a um estressor exógeno agudo, poderá ocorrer uma exacerbação do quadro de estresse já instalado.

No entanto, o fluxo salivar só apresentou diminuição significativa entre os voluntários sem estresse, não ocorrendo o mesmo entre os indivíduos com estresse. Esse resultado contradiz o mecanismo de ação do estresse em relação ao aumento dos CSV no ar bucal. Assim, os voluntários com estresse apresentaram um aumento na concentração dos CSV de 63% e o fluxo salivar diminuiu em 27% no dia da prova, enquanto que no grupo sem estresse observou-se aumento de 76% na concentração dos CSV e de 50% no fluxo salivar no dia da prova. Desse modo, o aumento dos CSV no dia da prova, não poderia ser explicada pela simples diminuição do fluxo salivar, retenção de células descamadas e metabolização de proteínas pelas bactérias bucais.

A análise bioquímica da saliva realizada no Grupo B, mostrou uma diminuição do pH no dia da prova. O pH salivar é dependente principalmente da concentração dos íons de bicarbonato, quanto mais o fluxo salivar é estimulado maior será a concentração de bicarbonato (EDGAR, O'MULLANE, 1996), mas como o estresse diminuiu o fluxo salivar, a taxa de bicarbonato na saliva será menor, porém não há na literatura, relatos da relação entre taxa de bicarbonato e CSV.

A relação entre pH e a produção dos CSV foi verificada *in vitro*, por GOLDBERG & ROSENBERG (1996), os quais observaram que a formação do mau odor pelo metabolismo das bactérias odoríferas foi mais efetivo em pH 5,0 a 8,0. Essa variação compreende um pH ótimo para as bactérias proteolíticas, assim a diminuição do pH no presente estudo, mesmo que estatisticamente diferente (pH 6,8), pode não ser relevante diante da variação normal de pH que ocorre na cavidade bucal dos indivíduos.

No Estudo II, as mulheres com TPM apresentaram um significativo aumento dos CSV no período pré-menstrual, enquanto que as mulheres sem TPM não apresentaram o mesmo resultado. É interessante notar que a condição estressante (TPM) ocasionou aumento de CSV, durante o período pré-menstrual somente nas mulheres que apresentavam sintomatologia. Esses resultados reforçam

a existência da relação do estresse, nesse caso a TPM, com o aumento da concentração dos CSV no hálito.

No entanto, foi no período menstrual que houve aumento significativo dos CSV no hálito em relação aos outros períodos, tanto nas mulheres com ou sem TPM. Esses resultados surpreenderam, pois o objetivo desse estudo foi avaliar o estresse (TPM) e a concentração dos CSV. Porém, observamos que as mulheres com ou sem TPM, podem ter os níveis de CSV aumentados durante o período de menstruação.

A condição de estresse que muitas mulheres apresentam durante o ciclo menstrual, se deve a um estímulo endógeno (metabólico), e que pode desencadear um aumento dos CSV através de um mecanismo diferente do Estudo I, onde a situação estressante ocorre frente a um estímulo exógeno que pode ser explicado através da diminuição do fluxo salivar. Pois, devemos lembrar que independente do aumento das concentrações dos CSV, não houve diferenças nas taxas do fluxo salivar.

A diminuição do fluxo salivar pode ser que não seja representada apenas pelo volume, mas sim pela composição da saliva, já que durante uma situação estressante há predominância do sistema nervoso simpático, o qual atua principalmente na secreção de proteína e conseqüentemente produz uma saliva viscosa (EDGAR, O'MULLANE, 1996).

Desse modo, a predominância de uma saliva viscosa, com maior concentração de proteínas, dificultaria a limpeza da cavidade bucal em termos de remoção de células epiteliais descamadas e resíduos provenientes da dieta, os quais contêm aminoácidos sulfurados, que quando reduzidos por ação bacteriana liberam CSV. Também aumentaria o tempo de estagnação da saliva, esta quando estagnada mesmo na cavidade bucal por um período longo, ocasionando produção dos CSV, esse fato se assemelha à incubação da saliva *in vitro*, como tem mostrado (TONZETICH, 1977).

No entanto, não foi constatado em nosso estudo o aumento de proteínas na saliva durante o estresse. Esse fator pode estar associado com o tipo de coleta da saliva, pois no presente estudo, optamos pela coleta da saliva não estimulada em todos os grupos, com o intuito de refletir uma situação mais próxima da normalidade. E a saliva quando estimulada pode ter a sua composição alterada (LAZZARI, 1976), ou seja, se a coleta de saliva tivesse sido estimulada, pode ser que teríamos uma maior concentração de proteínas na saliva durante a atuação de um agente estressor.

O fluxo avaliado foi proveniente da saliva total, então as alterações que por ventura tenham ocorrido em nível de secreção da glândula sublingual, submandibular e parótida, foram mascaradas, mesmo porque a secreção de proteína é dada principalmente pelas glândulas submandibulares e linguais (EDGAR, O'MULLANE, 1996).

É provável que o aumento dos CSV no Estudo II não esteja relacionado com o fluxo salivar, mas com a variação hormonal do ciclo. A variação hormonal que caracteriza o ciclo menstrual, pode durante o período menstrual, levar à um aumento de alguns hormônios como o de crescimento, somatostatina e β -endorfina, os quais regulam a liberação de substância P. A principal função da substância P é a transmissão do sinal da dor. No entanto, a substância P causa vasodilatação e aumenta o fluxo sanguíneo nos capilares gengivais e periodontais (FAZEKAS et al., 1990), principalmente nos processos inflamatórios bucais (GYÖRFI et al, 1994).

Assim, hipoteticamente, alguns hormônios presentes durante a menstruação poderiam aumentar a liberação de substância P, e como ela está associada com a inflamação tecidual (GYÖRFI et al, 1994), aumentaria o número de células epiteliais na cavidade bucal e a produção de CSV estaria favorecida.

PROUT & HOPPS (1970), demonstraram que durante a menstruação há um aumento do número de bactérias na cavidade bucal, podemos associar o aumento

dos CSV no hálito durante esse período, com a ativação das células imunes pelos produtos bacterianos, as quais liberam as citocinas (BIRKEDAL-HANSEN, et al, 1993). As citocinas estimulam as células teciduais, produzindo enzimas proteolíticas (MMPs), as quais degradam componentes teciduais, e podem contribuir para a degradação tecidual, ou seja, aumentando a descamação epitelial e assim, pode ocorrer maior produção de CSV.

Então, o estresse ocorrendo tanto no período pré-menstrual quanto no período menstrual pode estimular a resposta imune. Ele atua principalmente através do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal, onde há o hormônio liberador de corticotropina, o qual estimula a produção de citocinas, tal como as interleucinas pelos monócitos (McCLELLAND et al, 1980). Dessa forma, como já foi explicado anteriormente, pode ocorrer degeneração tecidual e favorecer a produção dos CSV através da disponibilidade de células epiteliais.

A saliva, além de apresentar uma grande variedade de componentes, pode conter alguns tipos de proteínas características de outras regiões do corpo, como observaram SPIELMAN et al (1995), que o odor característico da axila humana é produzido pela hidrólise da proteína apócrina, a qual foi encontrada também na saliva. Dessa maneira, outras proteínas odoríferas podem contribuir para formação do odor no hálito, e por mecanismos ainda não esclarecidos.

TONZETICH et al. (1978), verificaram grande variação dos CSV no ciclo menstrual, a concentração dos CSV no hálito foi mais elevada, durante vários períodos, incluindo o da menstruação. O aumento dos CSV durante a menstruação no presente estudo também foi constatado, mas não verificamos aumento durante o período não-menstrual, já os autores citados verificaram aumento na fase de ovulação, a qual corresponde ao período não-menstrual do presente estudo.

No entanto, deve-se enfatizar que os objetivos de ambos os estudos foram diferentes, dessa forma, o presente estudo contribui para mostrar que durante o período menstrual, muitas mulheres podem apresentar aumento dos CSV no hálito,

que dependendo da concentração produzem halitose.

TONZETICH et al (1978) relacionou o aumento dos CSV, em torno da menstruação com a possível descamação epitelial da mucosa bucal que ocorre durante essa fase citada por alguns autores na década de 50. Podemos relacionar esse fato, com o estudo de QUARANTA et al (1980), no qual foi mostrado um paralelismo do ciclo descamativo bucal com o vaginal, ocorrendo uma maior descamação dos epitélios durante a menstruação, somando-se esse estudo com o PROUT & HOPPS (1970), que mostra aumento das bactérias orais, explica-se a formação dos CSV, formados à partir da metabolização bacteriana dos aminoácidos sulfurados provenientes das células epiteliais.

Portanto, o presente estudo verificou que o estresse agudo (prova) pode ocasionar um aumento dos CSV no hálito, proveniente da diminuição do fluxo salivar, e através de alguns estudos prévios parece que a composição salivar pode influenciar na formação dos CSV.

Também foi verificado, que o período pré-menstrual e menstrual podem ocasionar aumento dos CSV, no entanto o mecanismo não pode ser explicado pela diminuição do fluxo salivar, mas parece estar relacionado com aumento de bactérias, aumento da descamação do epitélio e ativação do sistema imune através da liberação de citocinas.

CONCLUSÕES

- 1) Os resultados sugerem que uma condição estressante, crônica ou aguda pode ser um fator pré-disponente da halitose, devido ao aumento dos níveis de CSV no ar bucal.
- 2) O aumento da concentração dos CSV no ar bucal devido ao estresse não pode ser explicado somente pela diminuição do fluxo salivar.
- 3) Os resultados sugerem que estímulos estressantes de origem exógena e de origem endógena (metabólica) produzem aumento dos CSV no hálito por mecanismos diferentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ATTIA, E.L., MARSHALL, K.G. Halitosis. **Can Med Assoc J** v.126, p.1281-1285, 1982.
2. BARBER, H.R.K. Perimenopausal and geriatric gynecology. New York: Macmillan, 49-58, 1988.
3. BATES, J.F., ADAMS, D. The influence of mental stress on the flow of saliva in man. **Arch Oral Biol**, v.13, p.593-596, 1968.
4. BEELEY, J A Separation of human salivary proteins by isoelectric focusing in polyacrilamide gels. **Arch Oral Biol**, Oxford, v27, p. 559-561, 1969.
5. BERG, M. *et al* Chemical studies in periodontal disease. IV. . Putrefaction rate as index of periodontal disease. **J Dent Res**, v.26, p.67-71, 1947.
6. BERNARD, C. Leçons sur les phénomènes de la vie commune aux animaux et aux végétaux, vol.2 Pris, Baillière. 1879.
7. BIRKEDAL-HANSEN H, *et al* Matrix metalloproteinases: A review. **Crit Rev Oral Biol Med**, 4:197-250, 1993.
8. BLALOCK, J.E. The syntax of immune-endocrine communication. **Immunol Today**, v.15, p.504-511, 1994.
9. BOGDASARIN, R.S. Halitosis. **Otorinol Clin North Am**, v.19, n.1, p.101-117, 1986.

* De acordo com a NB-66, de 1978, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Abreviatura dos períodos de conformidade com o "World List of Scientific Periodicals".

10. BOSCH, J.A. Psychological stress as a determinant of protein levels and salivary- induced aggregation of *Streptococcus gordonii* in human whole saliva. **Psychosom Med**, jul-aug; 58(4): 374-82,1996.
11. BOSY, A. *et al.* Relationship of oral malodour to periodontitis: Evidence of independence in discrete subpopulations. **J Periodontol**, v.65, p.37-46, 1994.
12. BOOTH, OSTENSON. Infrared spectra of some sulphate-reducing bacteria. **J Gen Microbiol**. Jul; 44(1): 83-7, 1966.
13. BOYER, FRANCE. Alkaline phosphatase, arylsulfatase and beta-glucuronidase in saliva of cyclic women. **Int J Fertil**, 21(1): 43-8, 1976.
14. CANNON, WB. The wisdom of the body. New York, Norton, 1939.
15. CHEN, S. *et al.* Mercaptans and dimethyl sulfide in the breath of patients with cirrhosis of the liver. Effect of feeding methionine. **J Lab Clin Med**, v.75, p.628-710, 1970.
16. CHERASKIN, E., LANGLEY, L. Dynamics of Oral Diagnosis. **Year Book Med**, Chicago, p.400-403, 1956.
17. CLAESSEON, R. *et al.* Activity of polymorphonuclear leukocytes in the presence of sulfide. **Infect Immun** 57: 2776-2781, 1990.

18. COCKLE, HARKNESS. Changes in salivary peroxidase and polymorphonuclear neutrophil leucocyte enzyme activities during the menstrual cycle. **Br J Obstet Gynaecol.** Oct, 85(10): 776-82, 1978.
19. COHEN, S. Stress and infectious disease in humans. **Psychol Bull**, v.109, p.5-24, 1991.
20. COHEN, S., TYRELL, D.A.J., SMITH, A.P. Negative life events, perceived stress, negative affect, and susceptibility to the common cold. **J Pers Soc Psychol**, v.64, p.131-140, 1993.
21. COIL, J., TONZETICH, J. Characterization of volatile sulfur compounds production at individual gingival crevicular site in humans. **J Clin Dent**, v.3: 97-103, 1992.
22. CROHN, B.B., DROSD, R. Halitosis. **JAMA**, v.117, p.2242-2245, 1941.
23. DRUM, W. A new concept of periodontal diseases. **J Periodontol.** Aug; 46(8): 504-10, 1975.
24. DELANGHE, G. *et al.* **Experiences of a Belgian multidisciplinary approach.** Leuven: Leuven University Press, 1997. P.199-208.
25. EDGAR, W.M., O'MULLANE, D.M. *Saliva and Oral Health*, 2^a Ed., London, **British Dental Journal**, 1996.
26. ELLIS, A. *Humanistic psychology: the rational emotive approach.* New York. Julian, 1973.

27. ENDRESEN, J.G. Pain - a quality of life in parturient women. **Katilolehti**. Apr, 97(2): 23-4, 1992.
28. ERIKSEN, J., SEEGAARD, E., NAESS, K. Side-effect of thiocarbamides **Lancet**, v.1, p.231-232, 1975.
29. EVERLY, GS; ROSENFELD, R. The nature and the treatment of the stress response. New York: **Plenum Press**. 1981.
30. EVERLY, GS A clinical guide to the treatment of the human stress response. New York: **Plenum Press**. 1989.
31. FAZEKAS A, et al. Experimentally-induced neurogenic inflammation in the rat oral mucosa. **J Periodont Res** 1990; 25:276-282.
32. FISK, C. M., SUBARROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v.66, p. 375-400, 1925.
33. FOLKOW, B.; NEIL, E. Circulation. London: **Oxford University Press**. 1974.
34. FRANK, R.T., The hormonal causes of premenstrual tension. **Arch. Neurol. Psychiatry**, v.26, 1053-1057, 1931.
35. GERVARTER, W. Psychotherapy and the brain. Inédito. Washington: NASA, 1978.
36. GREEN LW, et al. Periodontal disease as a function of life events stress. **J Hum Stress** 1986; 12:32-36.

37. GREIN, N.J. *et al.* Estomatologia para o clínico, 7ª aula: Halitose - diagnóstico e tratamento. **Odontól Mod**, v.9, n.6, p.40-45, 1982.
38. GOLDBERG, R.L., BUONGIORNO, P.A., HENKIN, R.I. Delusions of halitosis. **Psychosomatics**, v.26, p.325-331, 1985.
39. GOLDBERG, R.L., ROSENBERG, M. Isolation of Enterobacteriaceae from the mouth and potential association with malodor. **J. Dent. Res.**, 76:1770-1775, 1996.
40. GUYTON, A C. Fisiologia Humana. 6ª Ed., **Editora Guanabara**, Rio de Janeiro, 1988.
41. GYÖRFI, A. *et al.* Neurogenic component in ligature-induced periodontitis in the rat. **J Clin Periodontol**, v.21, p.601-605, 1994.
42. HINE, K.H. Halitosis. **J Am Dent Assoc**, v.55, n.7, p.37-46, 1957.
43. HOLMES, T.H. ; RAHE, R.H. The social readjustment rating scale. **Journal of Psychosomatic Research**, 4, 189-194, 1967.
44. HOROWITZ, A., FOLKE, L. Hydrogen sulfide in the gingival environment. **IADR Program and abstracts**, nº 39, 1972.
45. HOWE, J.W. **The breath and the diseases wich give it a fetid odor.** 4.ed. New York: New York D. Appleton and Co.,. p.7-8, 1874.

46. JACOBSON, S.E. et al. Oral physiotherapy of the tongue and palate: relationship to plaque control. *J Am Dent Assoc* 87:134-139, 1973.
47. JENKINS, G.N. Halitosis. *In: THE PHYSIOLOGY and biochemistry of the mouth*. 4.ed.. London: Black well, 1978. p.350-352.
48. JOHNSON, P.W., Ng W., TONZETICH, J. Modulation of human gingival fibroblast metabolism by methyl mercaptan. *J Periodont Res* 27: 476-483, 1992.
49. JOHNSON, P.W, YAEGAKI, K., TONZETICH, J. Effect of methylmercaptan on synthesis and degradation of collagen. *J Periodont Res*, 31:323-329, 1996.
50. KAJI H, *et al.* Gas chromatographic determination of volatile sulfur compounds in the expired alveolar air in hepatopathic subjects. *J Chromatogr* 1978; 145: 464-468. 12
51. KLEINBERG, I., WESTBAY, G. Oral Malodor. *Crit Rev Oral Biol. Med.*, v.1, p.247-259, 1990.
52. KOJIMA, K.A. Avaliação da relação entre estresse e halitose pela análise de grupos sulfidrilos salivares. 1996. (*Relatório Científico Apresentado à FAPESP, Proc. 96/1158-0*).
53. KOSTELC, J.G. *et al* Salivary volatiles as indicators of periodontitis, *J Periodont Res* 15: 185-192, 1980.
54. KOSTELC, J.G. *et al.* Quantitative differences in volatiles from healthy mouths and mouths with periodontitis. *Clin Chem*, v.27, p.842-845, 1981.

55. KOSTELC, J.G. *et al.* Oral odours in early experimental gingivitis. **J Periodont Res**, v.19, p.303-312, 1984.
56. LANCERO, J.H.N., JOHNSON, P.W. Exposure of periodontal ligament cells to methyl mercaptan reduces intracellular pH and inhibits cell migration. **J Dent Res**, V.75, n.12, p.1994-2002, Dec. 1996.
57. LAURENZI, M.A. Stimulation of human B lymphocyte differentiation by the neuropeptide substance P and neurokinin A. **Scand J Immunol**, v.30, p.695-701, 1989.
58. LAZARUS, RS; FOLKMAN, S Stress, appraisal and coping, New York: Springer, 1984.
59. LEIMOLA-VIRTANEN, R. *et al.* Estrogen response in buccal mucosa - a cytological and immunohistological assay, **Maturitas** 27, 41-45, 1997.
60. LEVER, J., HAYNES, B. Premenstrual tension. New York, **Mc Graw-Hill Book Co.** 4-16, 1981.
61. LEVI, L.; Psychosocial stimulus, psychophysiological reactions and disease. **Acta Medica Scandinavica** (Suplement528), 1972.
62. LIPP, MEN, GUEVARA, AJH. Validity empírica of inventory of symptoms of stress (ISS). **Pysycologi's studies. PUC – Campinas**; 43-49. 17, 1994.
63. LOWRY, *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. biol. Chem.** V.93, p.1458, 1951.

64. LU, D.P. Halitosis: na etiologic classification, a treatment approach, and prevention. **Oral Surg**, v.54, p.521-526, 1982.
65. MAIN, D.M.G., RITCHIE, G.M. Cyclic changes in oral smears from young menstruating women. **Br. J. Dermatol** 1967, 79:20-30. 1967.
66. MARDER, M.Z. *et al.* Salivary electrolyte changes during pregnancy I. Normal pregnancy. **Am J Obstet Gynecol.** Jan. 112(2): 233-6, 1972.
67. MARSH P, MARTIN M. **Oral microbiology.** London : Chapman & Hall,; 56-97, 1992.
68. MASSLER, M., ENSLIE, R.D., BOLDEN, T.E. Fetor ex ore. **Oral Surg**, v.4, p.110-125, 1951.
69. McCLELLAND, D.C. Stressed power motivation, sympathetic activation, immune function, and illness. **J Hum Stress**, v.6, p.11-9, 1980.
70. McCLELLAND, D.C., ROSS, G., PATEL, V. The effect of an academic examination on salivary norepinephrine and immunoglobulin levels. **J Hum Stress**, v.11, p.52-59, 1985.
71. McNAMARA, T.F., ALEXANDER, J.F., LEE, M. The role of microorganisms in the production of oral malodor. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.34, p.41-48, 1972.
72. MEICHENBAUM, D.; JAREMKO, M.; Stress reduction and prevention, New York: Plenum Press, 1983.

73. MILLER, S.C., THALLER, J.L., SOBERMAN, A. The use of the Minnesota multiphasic personality inventory as a diagnostic aid in periodontal disease - a preliminary report. *J Periodontol* 1986; 27: 44-46.
74. MOOS, Fluctuations in symptoms and moods during the menstrual cycle. *J Psychosom Res*, Mar, 13(1): 37-44, 1969.
75. MORSE, D.R., *et al.* Stress relaxation and saliva a pilot study involving endodontic patients. *Oral Surg*, v.52, p.308- 313, 1981.
76. MURAYAMA, Y., *et al.* Acute necrotizing ulcerative gingivitis in the beagle dog. *J Period Res*; 17: 576-584, 1994.
77. NACARATO, A B. Stress no idoso: efeitos diferenciais da ocupação profissional. Dissertação de Mestrado. PUCCAMP, 1995.
78. NORRIS, R.V., SULLIVAN, C. PMS - premenstrual syndrome. New York, Rawson Associates 1-32, 1983.
79. PENFIELD, W. The mystery of the mind. Princeton, NJ: Princeton University Press, 1975.
80. PERSSON, S. *et al.* The formation of hydrogen sulphide and methyl mercaptan by oral bacteria. *Oral Microbiol Immunol* v.5, p.195-201, 1990.
81. PITTS, G. *et al.* Mechanism of action of na antiseptic, anti-odor mouthwash. *J Dent Res*, v.62, p.738-742, 1983.

82. PRETI, G. *et al.* Non-oral etiologies of oral malodour and altered chemosensation. **J Periodontol**, v.63, p.790-796, 1992
83. PROUT, R.E., HOPPS, R.M. A relationship between human oral bacteria and the menstrual cycle. **J Periodontol**, v.41, n.2, p.98-101, 1970.
84. PUSKULIAN, L. Salivary eletrolyte changes during the normal menstrual cycle. **J Dent Res**, n.5, vol.51, 1972.
85. QUARANTA, C., PICA, A., GALGANO, A. Variations in the superficial cells of the oral mucosa in adult females, in relation to menstrual cycle and to sampling technic. **Arch Stomatol**, v.21, n.2, p.265-279, 1980.
86. ROLDAN, E.; ALVAREZ-PELAEZ, P.; MOLINA, F. Electographic study of the amygdaloid defense response. **Physiology and behavior**, 13, 779-787, 1974.
87. ROSENBERG, M. Bad breath: diagnosis and treatment. U. **Toronto Dent J**, v.3, p.7-11, 1990.
88. ROSENBERG, M. Halitosis measurement by an industrial sulfide monitor. **J Periodontol**, v.62, p.487-489, 1991a.
89. ROSENBERG, M., McCULLOCH, C.A.G. Measurements of oral malodour: Current method and future prospects. **J Periodontol**, v.63, p.776-782, 1992.

90. ROSENBERG, M. *et al.* Reproducibility and sensitivity of oral malodour measurements with a portable sulfide monitor. **J Dent Res**, v.70, p.1436-1440, 1991b.
91. ROSENBERG, M. *et al.* Self-estimation oral malodour. **J Dent Res**, v.74, p.1577-1582, 1995.
92. SELYE, H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. **Nature**, v.138, n.1, 1936.
93. SELYE H. A: The stress of life, New York: McGraw-Hill, 1956.
94. SCHIMIDT, N.F., TARBET, W.J. The effect of oral rinses on organoleptic mouth odor ratings and levels of volatile sulfur compounds. **Oral Surg**, v.45, p. 876-883, 1978.
95. SCHNEYER, L.H. *et al.* Rate of flow of human parotid, sublingual and submaxillary secretions during sleep. **J Dent Res**, v.35, p.109-114, 1956.
96. SHAVIT, Y. *et al.* Opioid peptides mediate the suppressive effect on natural killer cell cytotoxicity. **Science**, v.223, p.188-190, 1984.
97. SHERIDAN, J.H. *et al.* Stress effects on pathogenesis and immunity during infection. **Clin Microbiol Rev**, p.200-212, 1994.
98. SHIMURA, M. *et al.* A new monitor with a zinc-oxide thin film semiconductor sensor for the measurement of volatile sulfur compounds in mouth air. **J Periodontol**, p.67, p.396-402, 1996.

99. SILVERSTINE, C.T. Garlic breath odor. **Ohio State Med J**, v.32, p.1233, 1936.
100. SIMENHOFF, M.L., BURKE, J.E., SAUKKONEN, J.J. Biochemical profile of uremic breath. **N Engl J Med**, v.297, p.132-135, 1977.
101. SOLIS-GAFFAR, M., FISCHER, T., GAFFAR, A. Instrumental evaluation of odor produced by specific oral microorganisms. **J Soc Cosmet Chem**, v.30, p.241-242, 1980.
102. SPIELMAN, I. A. *et al.* Proteinaceous precursors of human axillary odor: isolation of two novel odor-binding proteins. **Experientia**, 51, 1996.
103. SPIELMAN, I. A. Halitosis: A common oral problem. **N Y State Dent J**, v.36, Dec. 1995.
104. SPOUGE, J.D. Halitosis: A review of its causes and treatment. **Dent Pract**, v.14, p.307-317, 1964.
105. TÁRZIA, O. **Halitose**. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1991.
106. TENOVUO, J. *et al.* Evaluation of salivary markers during the menstrual cycle: peroxidase, protein and electrolytes. **Biochem. Med**, Jun; 25(3): 337-45, 1981.
107. THYSTRUP, A, FEJERSKOV, *Cariologia Clínica*, 2ª Ed., Munksgaard - Copenhagen. Livraria Santos Editora Ltda, 1994.

108. TONZETICH, J. Direct gas chromatographic analysis of sulphur compounds in mouth air in man. **Arch Oral Biol**, v.16, p.587-597, 1971.
109. TONZETICH, J. The uptake and metabolism of S-labeled volatile sulfur compounds by putrescent saliva. **Biochem Med** 7:52-60, 1973.
110. TONZETICH, J. Production and origin of oral malodor : A review of mechanisms and methods of analysis. **J Periodontol**, v.48, p.13-20, 1977.
111. TONZETICH, J., KESTENBAUM, R.C. Odour production by human salivary fractions and plaque. **Arch Oral Biol**, v.14, p.815-827, 1969.
112. TONZETICH, J., McBRIDE, B.C. Characterization of volatile sulphur production by pathogenic and nonpathogenic strains of oral bacteroides. **Archs. Oral Biol**. 26: 963-969, 1981.
113. TONZETICH, J., NG, S.K. Reduction of malodor by oral deasing procedures. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.42, p.172-181, 1976.
114. TONZETICH, J., RICHTER, V. Evaluation of volatile odoriferous components of saliva. **Arch Oral Biol**, v.9, p.39-45, 1964.
115. TONZETICH, J., SPOUGE, J.D. Effect of periodontal therapy on volatile sulphur content of mouth air. **J Dent Res**, v.58, p.175, 1979. [Abstract]
116. TONZETICH, J., PRETI, G., HUGGINS, C.R. Changes in concentration of VSC in mouth air during menstrual cycle. **J Int Med Res**, v.6, p.245-249, 1978.

117. TONZETICH, J. *et al.* Volatily as a factor in the inability of certain amines and indoles to increase the odour of saliva. **Archs Oral Biol**, v.12, p.1167-1175, 1967.
118. TOUYZ, L.Z.G. Oral malodor: A review. **J. Can. Dent.** 59: 607-610, 1993.
119. VAN WINKELHOFF, A J. *et al.* Intra-oral distribution of Black-pigmented *Bacteroides* spp in the human oral cavity. **Infect Immun** 32: 198-203, 1981.
120. VAN WINKELHOFF, A J. *et al.* Intra-oral distribution of Black-pigmented *Bacteroides* spp in periodontitis patients. **Oral Microbiol Immunol Jun**; 3(2): 83-5, 1988.
121. YAEGAKI, K. Oral malodor periodontal disease. *In*: ROSENBERG, M. (Ed.) **Bad Breath: Research Perspectives**. Tel Aviv: Ramot Publishing, 1995. p.87-108.
122. YAEGAKI, K., COIL, J.M., Clinical application of a questionnaire for diagnosis and treatment of halitosis. **Quintessence International**, vol.30, n.5, 1999a.
123. YAEGAKI, K., SANADA, K. Volatile sulfur compounds in mouth air from clinically health subjects and patients with periodontal disease. **J Periodont Res**, v.27, p.2333-238, 1992.
124. YEN, Hormonal relationships during the menstrual cycle. **JAMA**, Mar 2; 211(9): 1513-7, 1970.

APÊNDICES

APÊNDICE 01
DADOS DO ESTUDO I - GRUPO A
CSV (H)

NOME	Volunt.	Antes	Dia	Após
André	1	45	33	60
Angela	2	16	34	49
Bianca	3	49	85	44
Carolina C.	4	28	95	51
Carolina D.	5	45	60	121
Carolina A.	6	37	60	50
Carolina M.	7	43	71	56
Caroline	8	36	71	40
Daniela	9	29	60	47
Danilo	10	40	14	44
Elizabeth	11	41	57	45
Evellyn D.	12	12	43	30
Evelyn M.	13	49	62	50
Fábio	14	55	75	17
Flávia	15	93	104	102
Gisele	16	54	59	39
José Marcos	17	55	120	75
Laura	18	51	127	87
Marcio	19	53	86	50
Mirela	20	29	58	72
Priscila	21	45	91	38
Priscilla	22	21	79	58
Rejane	23	60	73	53
Samira	24	89	150	40
Thaisângela	25	78	101	68
Vinícius	26	34	55	49
Mitsue	27	21	134	41
Júlio	28	81	120	54
João	29	71	86	41
Luciane	30	115	278	86
Viviane	31	82	102	75
Suzane	32	140	223	170
Deise	33	69	87	34
Juliana	34	70	121	30
Média		54,00	90,41	57,82
Variân.		1695,00	2628,98	845,24
d. p.		28,00	51,27	29,07

APÊNDICE 02
DADOS DO ESTUDO I - GRUPO A
16 VOLUNTÁRIOS SEM ESTRESSE
CSV (H)

NOME	Volunt.	Antes	Dia	Após
Bianca	3	49	85	44
Carolina A.	6	37	60	50
Evellyn D.	11	41	57	45
Evelyn M.	12	12	43	30
Fábio	13	49	62	50
Flávia	14	55	75	17
Laura	17	55	120	75
Marcio	19	53	86	50
Priscilla	22	21	79	58
Samira	24	89	150	40
Thaisângela	25	78	101	68
Vinícius	26	34	55	49
Mitsue	27	21	134	41
João	29	71	86	41
Suzane	33	69	87	34
Juliana	34	70	121	30
Média		50,25	87,56	45,13
Variân.		1695,00	936,13	206,78
d. p.		21,91	30,60	14,38

APÊNDICE 03
DADOS DO ESTUDO I - GRUPO A
18 VOLUNTÁRIOS COM ESTRESSE
CSV (H)

NOME	Volunt.	Antes	Dia	Após
		H	H	H
André	1	45	33	60
Angela	2	16	34	49
Carolina C.	4	28	95	51
Carolina D.	5	45	60	121
Carolina M.	7	43	71	56
Daniela	8	36	71	40
Danilo	9	29	60	47
Elizabeth	10	40	14	44
Gisele	15	93	104	102
José Marcos	16	54	59	39
MARCELO	18	51	127	87
Mirela	20	29	58	72
Priscila S.	21	45	91	38
Rejane	23	60	73	53
Júlio	28	81	120	54
Luciane	30	115	278	86
Deise	31	82	102	75
Viviane	32	140	223	170
Média		57,33	92,94	69,11
Variân.		1695,00	4262,88	1171,63
d. p.		32,76	65,29	34,23

APÊNDICE 04
DADOS DO ESTUDO I - GRUPO A
FLUXO SALIVAR (FS)

NOME	Volunt.	Antes	Dia	Após
André	1	0,60	0,59	0,63
Angela	2	0,31	0,19	0,63
Bianca	3	0,20	0,10	0,17
Carolina C.	4	0,98	0,66	0,73
Carolina D.	5	0,93	0,81	0,38
Carolina A.	6	0,34	0,23	0,24
Carolina M.	7	0,24	0,17	0,25
Caroline	8	0,69	0,42	0,38
Daniela	9	0,38	0,28	0,24
Danilo	10	0,60	0,35	0,33
Elizabeth	11	0,40	0,29	0,61
Evellyn D.	12	0,46	0,72	0,39
Evelyn M.	13	0,35	0,11	0,22
Fábio	14	0,42	0,22	0,53
Flávia	15	0,42	0,01	0,37
Gisele	16	0,71	0,40	0,32
José Marcos	17	0,34	0,25	0,44
Laura	18	0,02	0,27	0,32
Marcio	19	1,10	0,60	0,56
Mirela	20	0,26	0,14	0,22
Priscila	21	0,53	0,54	0,74
Priscilla	22	0,89	0,55	0,67
Rejane	23	0,26	0,52	0,51
Samira	24	0,19	0,42	0,74
Thaisângela	25	1,15	0,11	0,13
Vinicius	26	1,45	0,30	0,26
Mitsue	27	0,46	0,31	1,26
Júlio	28	0,59	0,52	1,70
João	29	0,90	0,62	0,81
Luciane	30	0,48	0,02	1,42
Viviane	31	0,35	0,23	0,39
Suzane	32	0,28	0,27	0,42
Deise	33	1,16	0,71	1,68
Juliana	34	1,09	0,08	1,38
Média		0,57	0,35	0,59
Variân.		0,12	0,05	0,18
d. p.		0,35	0,22	0,42

APÊNDICE 05
DADOS DO ESTUDO I - GRUPO A
16 VOLUNTÁRIOS SEM ESTRESSE
FLUXO SALIVAR (FS)

NOME	Volunt.	Antes	Dia	Após
Bianca	3	0,20	0,10	0,17
Carolina A.	6	0,34	0,23	0,24
Elizabeth	11	0,40	0,29	0,61
Evellyn D.	12	0,46	0,72	0,39
Evelyn M.	13	0,35	0,11	0,22
Fábio	14	0,42	0,22	0,53
José Marcos	17	0,34	0,25	0,44
Marcio	19	1,10	0,60	0,56
Priscila	22	0,89	0,55	0,67
Samira	24	0,19	0,42	0,74
Thaisângela	25	1,15	0,11	0,13
Vinicius	26	1,45	0,30	0,26
Mitsue	27	0,46	0,31	1,26
João	29	0,90	0,62	0,81
Deise	33	1,16	0,71	1,68
Juliana	34	1,09	0,08	1,38
Média		0,68	0,35	0,63
Variân.		0,17	0,05	0,21
d. p.		0,41	0,22	0,46

APÊNDICE 06
DADOS DO ESTUDO I - GRUPO A
18 VOLUNTÁRIOS COM ESTRESSE
FLUXO SALIVAR (FS)

NOME	Volunt.	Antes	Dia	Após
André	1	0,60	0,59	0,63
Angela	2	0,31	0,19	0,63
Carolina C.	4	0,98	0,66	0,73
Carolina D.	5	0,93	0,81	0,38
Carolina M.	7	0,24	0,17	0,25
Caroline	8	0,69	0,42	0,38
Daniela	9	0,38	0,28	0,24
Danilo	10	0,60	0,35	0,33
Flávia	15	0,42	0,01	0,37
Gisele	16	0,71	0,40	0,32
Laura	18	0,02	0,27	0,32
Mirela	20	0,26	0,14	0,22
Priscila	21	0,53	0,54	0,74
Rejane	23	0,26	0,52	0,51
Júlio	28	0,59	0,52	1,70
Luciane	30	0,48	0,02	1,42
Viviane	31	0,35	0,23	0,39
Suzane	32	0,28	0,27	0,42
Média		0,48	0,36	0,55
Variân.		0,06	0,05	0,16
d. p.		0,25	0,22	0,40

APÊNDICE 07
DADOS DO ESTUDO I - GRUPO B - CSV (H) E FLUXO SALIVAR (FS)

NOME	Volunt.	Antes	Dia	Após	Antes	Dia	Após
		H	H	H	FS	FS	FS
Adela C.M. Torres	1	179	450	350	0,32	0,30	0,30
Americo B.Correr	2	55	57	45	0,60	0,20	0,58
Ana Paula Gomes	3	68	142	63	0,68	0,40	0,92
Bruno Carnachioni	4	134	150	145	0,49	0,26	0,36
Caio R.P.Lopes	5	52	53	37	0,72	0,56	0,58
Cintia O.Scanavini	6	74	87	35	0,28	0,40	0,59
Cristiane Sadakiyo	7	40	100	51	0,63	0,40	0,51
Cristiane M.Takata	8	48	78	80	0,46	0,16	0,28
Daniel A.de Angelis	9	199	152	162	0,24	0,30	0,30
Daniel F.P. Vasconcelos	10	50	196	114	0,62	0,50	0,76
Daniela C.B. Aguiar	11	53	202	89	0,32	0,30	0,58
Debora C.de Almeida	12	92	79	83	1,20	0,41	0,76
Douglas O. Andrade	13	55	72	80	0,57	0,24	0,46
Fernanda R.Rodrigues	14	155	168	97	0,42	0,30	0,38
Fernanda F. R.Santos	15	37	101	46	0,40		
Filipe M.Santos	16	42	64	54	0,26	0,20	0,31
Flavia Regina Gatti	17	45	100	71	0,98	0,50	0,77
Gustavo S.N.Simoes	18	185	157	129	0,24	0,10	0,51
Leticia Badam Massai	19	46	42	36	0,80	0,22	0,78
Lidiane de Almeida	20	100	89	59	0,32	0,42	0,42
Luciana de Souza S.	21	60	52	48	0,78	0,44	0,90
Luciana Gurgel da S.	22	124	117	195	0,20		
Marcia Diaz Serra	23	127	199	122	0,34	0,30	0,48
Maria C. M.Tureli	24	75	52	31	0,66	0,32	0,74
Maurício Aquati	25	101	139	112	0,30	0,40	0,42
Mayara A.D.de Brito	26	68	190	98	0,40	0,10	0,30
Melina M.Watanabe	27	205	113	39	0,44	0,10	0,21
Michele Baffi Diniz	28	162	131	62	0,42	0,40	0,40
Nalia Cecilia G.Juarez	29	43	171	80	0,40	0,10	0,81
Patrick W. Q. Baltieri	30	46	42	52	0,44	0,27	0,50
Paula Haddad Pozzo	31	69	68	140	0,62	0,16	0,69
Rafaella C.de Queiroz	32	145	234	146	0,26	0,13	0,58
Renata Murakami	33	35	80	60	0,50	0,12	0,76
Susana Leico Komeno	34	144	237	93	0,81	0,18	1,20
Valeria da S. Santos	35	57	113	43	0,34	0,20	0,20
Vanessa Bronhara	36	107	87	44	0,64	0,31	0,62
Veridiana F. Conetti	37	113	258	119	0,20	0,11	0,24
Média		91,62	130,32	89,46	0,49	0,28	0,55
Variân.		2612,74	6415,56	3618,20	0,05	0,02	0,05
d.p.		51,11	80,10	60,15	0,23	0,13	0,23

APÊNDICE 08
DADOS DO ESTUDO I - GRUPO B - pH e "CAPACIDADE TAMPÃO" (CT)

NOME	Volunt.	Antes pH	Dia pH	Após pH	Antes CT	Dia CT	Após CT
Adela C.M. Torres	1	7,48	6,74	7,65	4,58	5,47	5,37
Americo B. Correr	2	7,04	6,27	6,71	4,33	4,67	4,87
Ana Paula Gomes	3	6,97	6,82	6,72	4,44	3,97	4,9
Bruno Carnachioni	4	7,78	6,86	7,48	3,82	3,8	3,53
Caio R.P. Lopes	5	6,97	6,77	7,37	2,90	3,05	3,21
Cintia O. Scanavini	6	7,20	7,3	7,22	5,86	6,18	5,48
Cristiane A. Sadakiyo	7	7,33	6,85	7,28	2,9	2,99	3,82
Cristiane M. Takata	8	7,64		7,42	5,15	3,25	3,87
Daniel A. de Angelis	9	7,17	6,81	7,7	2,86	4,47	3,72
Daniel F.P. Vasconcelos	10	7,20	7,03	7,26	4,11	3,42	3,81
Daniela C.B. Aguiar	11	7,42	7,11	7,37	2,99	4,53	4,57
Debora C. de Almeida	12	7,15	7,1	7,57	2,95	3,6	4,18
Douglas O. Andrade	13	8,04	6,71	7,51	5,27	4,82	5,63
Fernanda R. Rodrigues	14	6,81	6,64	6,98	3,14	4,09	3,21
Fernanda F. R. Santos	15			7,1			
Filipe M. Santos	16	6,58	6,73	6,79	3,67	4,03	3,55
Flavia Regina Gatti	17	7,74	6,4	7,31	6,22	4,76	5,27
Gustavo S.N. Simoes	18	7,05		7,4	2,91	3,96	2,91
Leticia Badann Massai	19	7,33	6,9	7,4	2,88	2,81	
Lidiane de Almeida	20	6,93	6,84	7,16	2,79	2,9	4,37
Luciana de Souza Silva	21	7,09	6,9	7,21	2,68	2,82	3,03
Luciana Gurgel da S.	22	7,29		7,28	2,69		2,62
Marcia Diaz Serra	23	7,07	6,79		3,08	2,86	3,08
Maria Claudia Tureli	24	7,17	7,07	7,25	3,45	3,13	4,16
Mauricio Aquati	25	6,96	7,16	7,82	4,75	5,46	5,45
Mayara A.D. de Brito	26	7,49	7,07	7,68	4,45	4,13	4,99
Melina M. Watanabe	27	8,04		7,84	3,60	2,92	2,58
Michele Baffi Diniz	28	6,93	6,52	7,07	3,32	3,54	4,16
Nalia Cecilia G. Juarez	29	7,06		7,12	3,04	4,55	3,55
Patrick W. Q. Baltieri	30	7,42	7,15	7,45	4,77	4,51	4,54
Paula Haddad Pozzo	31	7,62		7,34	2,71	2,77	3,18
Rafaella C. de Queiroz	32	6,58		6,66	3,03	3,61	4,1
Renata Murakami	33	7,10		7,15	2,52	2,61	3,01
Susana Leico Komeno	34	7,35		6,5	4,81	4,64	4,53
Valeria da Silva Santos	35	6,52		6,37	4,28	4,7	4,02
Vanessa Bronhara	36	7,22	6,77	7,17	2,82	2,81	2,6
Veridiana F. Conetti	37	7,78	7,08	7,28	4,28	4,13	3,74
Média		7,24	6,86	7,24	3,72	3,88	3,99
Variân.		0,14	0,06	0,12	0,98	0,82	0,79
d.p.		0,37	0,24	0,35	0,99	0,90	0,89

APÊNDICE 09
DADOS DO ESTUDO I - GRUPO B
PROTEÍNA

NOME	Volunt.	Antes	Dia	Após
Adela C.M. Torres	1	2,36	2,70	6,07
Americo B.Correr	2	2,21	1,90	2,79
Ana Paula Gomes	3	1,80	1,80	1,73
Bruno Carnachioni	4	1,08	1,17	0,97
Caio R.P.Lopes	5	1,36	0,94	1,20
Cintia O.Scanavini	6	1,73	1,94	2,13
Cristiane A. Sadakiyo	7	0,99	1,49	1,21
Cristiane M.Takata	8	3,17	1,73	1,15
Daniel A.de Angelis	9	1,39	1,21	0,96
Daniel F.P. Vasconcelos	10	0,70	1,30	1,36
Daniela C.B. Aguiar	11	0,76	2,37	1,23
Debora C.de Almeida	12	1,93	1,40	1,68
Douglas O. Andrade	13	1,73	1,56	4,31
Fernanda R.Rodrigues	14	1,85	1,63	1,34
Fernanda F. R.Santos	15	1,62	0,97	0,76
Filipe M.Santos	16	5,58	2,58	2,19
Flavia Regina Gatti	17	2,02	1,40	3,18
Gustavo S.N.Simoes	18	2,89	3,69	2,13
Leticia Badann Massai	19	0,64	1,10	1,36
Lidiane de Almeida	20	1,05	0,56	1,31
Luciana de Souza Silva	21	1,40	1,26	1,67
Luciana Gurgel da S.	22	2,41	1,55	2,24
Marcia Diaz Serra	23	1,15	0,80	0,99
Maria Claudia Tureli	24	1,04	1,11	1,46
Mauricio Aquati	25	1,62	1,68	3,01
Mayara A.D.de Brito	26	0,51	1,37	1,11
Melina M.Watanabe	27	1,17	1,12	0,67
Michele Baffi Diniz	28	2,17	2,26	1,94
Nalia Cecilia G.Juarez	29	2,43	4,87	1,30
Patrick W. Q.Baltieri	30	0,88	1,96	1,09
Paula Haddad Pozzo	31	0,97	0,87	0,97
Rafaella C.de Queiroz	32	1,56	1,82	5,58
Renata Murakami	33	0,71	1,04	1,30
Susana Leico Komeno	34	1,77	1,83	2,38
Valeria da Silva Santos	35	9,55	2,72	3,58
Vanessa Bronhara	36	0,46	0,66	0,75
Veridiana F. Conetti	37	1,57	1,22	1,60
Média		1,84	1,66	1,91
Variân.		2,57	0,71	1,58
d.p.		1,60	0,85	1,26

APÊNDICE 10
DADOS DO ESTUDO I - GRUPO B
FÓSFORO

NOME	Volunt.	Antes	Dia	Após
Adela C.M. Torres	1	0,034	0,062	0,086
Americo B.Correr	2	0,037	0,037	0,047
Ana Paula Gomes	3	0,043	0,049	0,049
Bruno Carnachioni	4	0,029	0,034	0,033
Caio R.P.Lopes	5	0,038	0,032	0,032
Cintia O.Scanavini	6	0,082	0,069	0,078
Cristiane A. Sadakiyo	7	0,037	0,063	0,035
Cristiane M.Takata	8	0,041	0,036	0,029
Daniel A.de Angelis	9	0,034	0,023	0,025
Daniel F.P. Vasconcelos	10	0,035	0,025	0,025
Daniela C.B. Aguiar	11	0,027	0,042	0,038
Debora C.de Almeida	12	0,052	0,036	0,048
Douglas O. Andrade	13	0,041	0,033	0,117
Fernanda R.Rodrigues	14	0,061	0,055	0,038
Fernanda F. R.Santos	15	0,042	0,027	0,025
Filipe M.Santos	16	0,099	0,056	0,067
Flavia Regina Gatti	17	0,049	0,034	0,035
Gustavo S.N.Simoes	18	0,041	0,045	0,033
Leticia Badann Massai	19	0,043	0,027	0,024
Lidiane de Almeida	20	0,029	0,026	0,024
Luciana de Souza Silva	21	0,027	0,031	0,027
Luciana Gurgel da S.	22	0,001	0,024	0,010
Marcia Diaz Serra	23	0,026	0,020	0,010
Maria Claudia Tureli	24	0,037	0,042	0,025
Mauricio Aquati	25	0,050	0,051	0,049
Mayara A.D.de Brito	26	0,041	0,037	0,027
Melina M.Watanabe	27	0,040	0,028	0,006
Michele Baffi Diniz	28	0,067	0,059	0,042
Nalja Cecilia G.Juarez	29	0,045	0,067	0,016
Patrick W. Q.Baltieri	30	0,039	0,049	0,030
Paula Haddad Pozzo	31	0,028	0,030	0,017
Rafaella C.de Queiroz	32	0,042	0,049	0,071
Renata Murakami	33	0,028	0,037	0,023
Susana Leico Komeno	34	0,057	0,040	0,035
Valeria da Silva Santos	35	0,081	0,062	0,080
Vanessa Bronhara	36	0,029	0,040	0,013
Veridiana F. Conetti	37	0,048	0,042	0,033
Média		0,043	0,041	0,038
Variân		0,000	0,000	0,001
d.p.		0,018	0,013	0,024

APÊNDICE 11
DADOS DO ESTUDO I - GRUPO B
CÁLCIO

NOME	Volunt.	Antes	Dia	Após
Adela C.M. Torres	1	18,54	31,69	20,32
Americo B.Correr	2	33,10	33,94	35,93
Ana Paula Gomes	3	17,78	14,48	18,06
Bruno Carnachioni	4	13,23	18,66	16,78
Caio R.P.Lopes	5	13,68	16,57	32,55
Cintia O.Scanavini	6	17,02	11,75	14,36
Cristiane A. Sadakiyo	7	11,26	18,66	10,34
Cristiane M.Takata	8	25,37	22,52	12,91
Daniel A.de Angelis	9	18,24	26,06	15,49
Daniel F.P. Vasconcelos	10	16,26	20,59	15,33
Daniela C.B. Aguiar	11	17,58	13,68	12,44
Debora C.de Almeida	12	14,59	10,28	13,28
Douglas O. Andrade	13	14,75	18,01	27,29
Fernanda R.Rodrigues	14	18,21	24,98	11,26
Fernanda F. R.Santos	15			19,70
Filipe M.Santos	16		18,32	28,13
Flavia Regina Gatti	17	22,29	20,33	16,49
Gustavo S.N.Simoes	18	21,04	21,73	23,07
Leticia Badann Massai	19	17,11	16,78	7,38
Lidiane de Almeida	20	20,41	13,89	15,48
Luciana de Souza Silva	21	16,16	17,36	16,27
Luciana Gurgel da S.	22	18,96	23,16	16,95
Marcia Diaz Serra	23	18,01	34,91	14,73
Maria Claudia Tureli	24	23,88	15,71	10,13
Mauricio Aquati	25	23,57	15,05	17,97
Mayara A.D.de Brito	26	15,47	13,72	14,73
Melina M.Watanabe	27	15,15	14,22	14,91
Michele Baffi Diniz	28	20,23	10,58	12,01
Nalia Cecilia G.Juarez	29	21,34	30,28	16,44
Patrick W. Q.Baltieri	30	17,74	9,90	11,33
Paula Haddad Pozzo	31	14,94	21,57	13,52
Rafaella C.de Queiroz	32	47,19	18,57	36,69
Renata Murakami	33	18,89	35,57	16,92
Susana Leico Komeno	34	20,21	56,57	41,97
Valeria da Silva Santos	35	39,95	33,73	55,10
Vanessa Bronhara	36	16,75	13,90	17,78
Veridiana F. Conetti	37	32,06	15,23	17,78
Média		20,31	20,91	19,24
Variân		55,65	90,27	98,17
d.p.		7,46	9,50	9,91

APÊNDICE 12
DADOS DO ESTUDO II - MULHERES SEM TPM (CONTROLE)
CSV (H)

FASE 1: Período não-menstrual

FASE 2: Período pré-menstrual

FASE 3: Período menstrual

NOME	Volunt.	Fase 1	Fase 2	Fase 3
Aline S. Marques	1	73	92	82
Ana Paula	2	62	58	75
Carla N. Pierobon	3	48	45	120
Carolina P. Aires	4	120	33	96
Carolina Diniz	5	47	85	40
Carolina Matsumura	6	50	35	52
Cinthia M. Tabchoury	7	45	71	97
Cristiane Machado	8	42	40	54
Eliene	9	56	71	63
Elizabeth	10	41	21	125
Érica	11	38	25	45
Evellyn	12	53	86	45
Flávia Gambarelli	13	31	70	46
Keli C. Carvalho	14	58	53	132
Lívia	15	50	67	59
Luciane	16	42	62	77
Milena	17	57	41	58
Mirela	18	51	25	75
Mitsue Fujimaki	19	61	50	89
Morgana	20	60	60	128
Paula	21	41	65	76
Regiane	22	52	48	65
Samanta	23	68	54	80
Silvana	24	59	66	92
Tatiana Massunaga	25	41	48	51
Thaisângela	26	39	50	68
Ynara	27	70	37	54
Média		53,89	54,00	75,70
Variân		284,18	354,85	721,14
D.P.		16,86	18,84	26,85

APÊNDICE 13
DADOS DO ESTUDO II - MULHERES SEM TPM (CONTROLE)
FLUXO SALIVAR (FS)

FASE 1: Período não-menstrual

FASE 2: Período pré-menstrual

FASE 3: Período menstrual

NOME	Volunt.	Fase 1	Fase 2	Fase 3
Aline S. Marques	1	0,86	0,91	1,34
Ana Paula	2	0,23	0,17	0,31
Carla N. Pierobon	3	0,6	0,53	0,59
Carolina P. Aires	4	0,32	0,28	0,39
Carolina Diniz	5	0,81	1,50	0,74
Carolina Matsumura	6	0,14	0,34	0,23
Cinthia M. Tabchoury	7	0,65	0,57	0,52
Cristiane Machado	8	0,22	0,21	0,26
Eliene	9	0,25	0,26	0,31
Elizabeth	10	0,40	0,31	0,29
Érica	11	0,36	0,49	0,43
Evellyn	12	0,24	0,32	0,26
Flávia Gambarelli	13	0,41	0,32	0,45
Keli C. Carvalho	14	1,50	1,42	0,74
Livia	15	0,17	0,13	0,12
Luciane	16	0,57	0,67	0,88
Milena	17	0,32	0,22	0,31
Mirela	18	0,27	0,21	0,13
Mitsue Fujimaki	19	0,42	0,45	0,45
Morgana	20	0,38	0,54	0,19
Paula	21	0,38	0,46	0,61
Regiane	22	0,19	0,24	0,15
Samanta	23	0,35	0,53	0,37
Silvana	24	0,26	0,52	0,46
Tatiana Massunaga	25	0,17	0,13	0,23
Thaisângela	26	0,25	0,31	0,28
Ynara	27	0,18	0,20	0,22
Média		0,40	0,45	0,42
Variân		0,08	0,12	0,07
D.P.		0,29	0,34	0,27

APÊNDICE 14
DADOS DO ESTUDO II - MULHERES COM TPM
CSV (H)

FASE 1: Período não-menstrual

FASE 2: Período pré-menstrual

FASE 3: Período menstrual

NOME	Volunt.	Fase 1	Fase 2	Fase 3
Adriana	1	57	33	114
Alessandra	2	126	99	135
Ana Maria	3	71	85	53
Carolina Carraro	4	65	62	58
Daniela	5	58	73	142
Deise	6	73	61	111
Kira	7	33	25	56
Laura	8	45	54	105
Lilian	9	65	80	98
Marina	10	44	87	39
Patrícia Maria	11	49	45	61
Paula Cristina	12	35	120	82
Poliana	13	39	34	55
Regina C. R. Perez	14	56	179	65
Renata	15	63	75	45
Rosana	16	73	157	122
Rosemary	17	54	97	65
Samira	18	40	89	150
Shirley	19	51	104	96
Silvana	20	51	33	55
Solange	21	42	105	71
Suzane	22	25	40	41
Vanessa	23	45	66	50
Média		54,78	78,39	81,26
Variân		411,18	1513,25	1185,47
D.P.		20,28	38,90	34,43

APÊNDICE 15
DADOS DO ESTUDO II - MULHERES COM TPM
FLUXO SALIVAR (FS)

FASE 1: Período não-menstrual

FASE 2: Período pré-menstrual

FASE 3: Período menstrual

NOME	Volunt.	Fase 1	Fase 2	Fase 3
Adriana	1	0,30	0,41	0,10
Alessandra	2	0,48	0,52	0,51
Ana Maria	3	0,96	0,63	0,95
Carolina Carraro	4	0,91	1,39	1,09
Daniela	5	0,49	0,49	0,62
Deise	6	0,40	0,34	0,31
Kira	7	0,39	0,46	0,31
Laura	8	0,42	0,36	0,40
Lilian	9	0,27	0,23	0,29
Marina	10	0,35	0,23	0,39
Patricia Maria	11	0,38	0,73	0,89
Paula Cristina	12	0,45	0,41	0,54
Poliana	13	0,34	0,39	0,55
Regina C. R. Perez	14	0,42	0,61	0,37
Renata	15	0,44	0,90	0,86
Rosana	16	0,28	0,29	0,41
Rosemary	17	0,81	1,07	0,84
Samira	18	0,68	0,48	0,74
Shirley	19	0,48	0,55	0,43
Silvana	20	0,20	0,23	0,16
Solange	21	0,20	0,31	0,43
Suzane	22	1,20	0,87	0,97
Vanessa	23	0,27	0,22	0,32
Média		0,46	0,53	0,54
Variân		0,06	0,09	0,08
D.P.		0,24	0,30	0,28

ANEXOS

Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Disciplina de Bioquímica - Departamento de Ciências Fisiológicas

Ficha Clínica – Odontológica

Nome: _____
 Endereço: _____ n^o: _____ Bairro: _____
 Cidade: _____ Fone: _____
 Naturalidade: _____ Data Nascimento: ____/____/____
 Grau de instrução: _____ Estado civil: _____ Sexo: _____ Raça: _____ Profissão: _____

Anamnese

1. História médica:

Estado geral de saúde: Boa() Regular() Ruim()

Está ou esteve recentemente sob cuidados médicos? Sim() Não()

Por quê? _____

Está no momento tomando algum medicamento? Sim() Não() Qual? _____

Doenças que acometeram até a presente data:

inflamação ou infecção de ordem: oral()	diabete()
nasal()	tuberculose()
laríngea()	pneumonias()
faringea()	gastrite()
esofágica()	
estomacal()	

Outras: _____

Faz uso de creme dental antibacteriano? Sim() Não() Qual? _____

Faz uso de enxaguatório bucal? Sim() Não() Qual? _____

É respiradora bucal? Sim() Não() Qual? _____

Apresenta halitose? _____

2. Exame clínico intra oral:

Cáries: Sim() Não()

Média: _____

Periodonto: Bom() Regular() Ruim()

Língua: _____

Outros: _____

DISCIPLINA DE BIOQUÍMICA - FOP/UNICAMP

INVENTÁRIO DE SINTOMAS DE STRESS (ISS) – LIPP, M.E.N e GUEVARA, A.J.H. (1994). Validação empírica do Inventário de Sintomas de Stress (ISS). Estudos de Psicologia. PUC-Campinas: 43-49

Aluno: Celso S. Queiroz

Orientador: Prof. Jaime A. Cury

Voluntário:

QUADRO 01

a) Marque com um **F1** os sintomas que tem experimentado no último mês:

- 1. mãos (pés) frios
- 2. boca seca
- 3. nó no estômago
- 4. aumento de sudorese
- 5. tensão muscular
- 6. aperto da mandíbula/ranger os dentes
- 7. diarreia passageira
- 8. insônia
- 9. taquicardia
- 10. hiperventilação
- 11. hipertensão arterial
- 12. mudança de apetite

b) Marque com um **P1** os sintomas que tem experimentado nas últimas 24 horas

- 13. aumento súbito de motivação
- 14. entusiasmo súbito
- 15. vontade súbita de iniciar novos projetos

QUADRO 02

a) Marque com um **F2** os sintomas que tem experimentado no último mês:

- 1. problemas com a memória
- 2. mal estar generalizado, sem causa específica
- 3. formigamento das extremidades
- 4. sensação de desgaste físico constante
- 5. mudança de apetite
- 6. aparecimento de problemas dermatológicos
- 7. hipertensão arterial
- 8. cansaço constante
- 9. aparecimento de úlcera
- 10. tontura/sensação de estar fluando

- b) Marque com um **P2** os sintomas que tem apresentado na última semana
- 11. sensibilidade emotiva excessiva
 - 12. dúvida quanto a si próprio
 - 13. pensar constantemente em um só assunto
 - 14. irritabilidade excessiva
 - 15. diminuição da libido

QUADRO 03

- a) Marque com um **F3** os sintomas que tem experimentado na última semana
- 1. diarreia frequente
 - 2. dificuldades sexuais
 - 3. insônia
 - 4. náusea
 - 5. tiques
 - 6. hipertensão arterial continuada
 - 7. problemas dermatológicos prolongados
 - 8. mudança extrema de apetite
 - 9. excesso de gases
 - 10. tontura frequente
 - 11. úlcera
 - 12. enfarte

- b) Marque com um **P3** os sintomas que tem experimentado na última semana
- 13. impossibilidade de trabalhar
 - 14. pesadelos
 - 15. sensação de incompetência em todas as áreas
 - 16. vontade de fugir de tudo
 - 17. apatia, depressão ou raiva prolongada
 - 18. cansaço excessivo
 - 19. pensar/falar constantemente em um só assunto
 - 20. irritabilidade sem causa aparente
 - 21. angústia/ansiedade diária
 - 22. hipersensibilidade emotiva
 - 23. perda do senso de humor

Piracicaba, de de 1998.

assinatura

**Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba**

Informações sobre a pesquisa: ESTRESSE X HALITOSE

- A pesquisa visa avaliar se uma **condição aguda de estresse**, ou seja, a realização da **Prova de Bioquímica**, promove alteração na concentração de **Compostos Sulfurados Voláteis (CSV)** no hálito bucal;
- O grupo de voluntários serão selecionados, mediante realização do exame clínico intra-oral e respectiva anamnese.
- Para a participação do experimento o voluntário deverá assinar um termo de informação e consentimento, deverá preencher uma ficha de informações a respeito da saúde oral, geral e responder um questionário a fim de avaliar se o voluntário possui ou não estresse crônico;
- **Para a realização do experimento o voluntário deve se apresentar em jejum e sem nenhum tipo de higienização oral, nos dias e horários combinados).**

As medidas serão realizadas da seguinte forma:

1. medida: **1 semana antes da prova;**
 - 1 medida: **no dia da prova;**
 - 2 medida: **1 semana após a prova;**
- Para a mensuração do hálito utiliza-se um aparelho sensível aos CSV (**HALÍMETRO**);
 - Após a mensuração do hálito, será coletada a saliva em um copo plástico durante 5 minutos a fim de medir o **fluxo salivar**;
 - Após o experimento será oferecido aos voluntários um **café da manhã** em nossas dependências.

A sua colaboração é muito importante!

Desde já agradecemos

Disciplina de Bioquímica Oral.

Informações e consentimento pós-informação para pesquisa clínica

Nome do Voluntário:.....
Endereço:.....
Telefone para contato:.....
Cidade:..... CEP:.....

As informações contidas neste prontuário foram fornecidas pelo cirurgião-dentista Celso da Silva Queiroz (Mestrando em Fisiologia e Biofísica do Sistema Estomatognático – FOP/UNICAMP) e Prof. Dr. Jaime A. Cury (Orientador), objetivando firmar acordo escrito mediante o qual, o voluntário da pesquisa autoriza sua participação com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que se submeterá, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1. Título do Trabalho Experimental: Avaliação do estresse como fator etiológico da halitose através da análise dos compostos sulfurados voláteis.

2. Objetivo: Comprovar a relação entre o estresse e a halitose através da mensuração dos compostos sulfurados voláteis e avaliar a correlação entre a concentração desses compostos e o fluxo salivar.

3. Justificativa: Embora na literatura tenha sido encontradas citações a respeito da relação entre estresse e a halitose, nenhum trabalho foi feito para comprovar sua existência.

4. Procedimentos da fase experimental: Serão feitas análises com 3 grupos de estudos sob diferentes condições de estresse. No grupo 1 serão convidados 80 alunos do 1º ano da FOP-UNICAMP em vésperas das avaliações de Bioquímica Geral. No grupo 2, 50 mulheres em período de tensão pré-menstrual. No grupo 3 serão utilizados 50 aspirantes à paraquedistas, quando forem realizar o 1º salto. Os participantes serão selecionados segundo os seguintes critérios: não apresentar doenças periodontais ou qualquer outro tipo de patologia oral; não apresentar alterações de ordem naso-faríngeas e gástricas; não estar utilizando cremes dentais antibacterianos; não estar tomando antibióticos; não fumar por 4 horas antes do experimento; não comer comidas condimentadas, cebola, alho, por 24 horas antes do experimento; não usar perfume, colônia, loção após barba, etc, na hora do experimento. Os voluntários deverão se apresentar sem ter realizado nenhum tipo de higiene oral e em jejum de 4 horas antes do teste. A mensuração dos compostos sulfurados voláteis será realizada através de um aparelho chamado halímetro, e a mensuração do fluxo salivar será realizada no mesmo dia, acondicionando a saliva em um copo plástico.

5. Desconforto ou riscos esperados: Os voluntários não serão submetidos a riscos durante o período experimental, pois irão expirar o ar bucal em uma cânula de plástico, removível, individual e descartável ligado ao halímetro.

6. Informações: O voluntário tem garantia que receberá respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos benéficos e outros

assuntos relacionados com a pesquisa. Também os pesquisadores supracitados assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando.

7. Retirada do consentimento: O voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo.

8. Aspecto legal: Elaborados de acordo com as diretrizes e normas regulamentadas de pesquisas envolvendo seres humanos atendendo à Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério de Saúde – Brasília – DF.

9. Garantia do sigilo: Os pesquisadores asseguram a privacidade dos sujeitos quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

10. Formas de ressarcimento das despesas decorrentes da participação na pesquisa: O voluntário deverá vir em jejum para fazer o experimento, entretanto, logo após será fornecido gratuitamente uma café da manhã (café, leite, pão, suco, queijo, presunto e requeijão) e também serão ressarcidas despesas com eventuais deslocamentos.

11. Local da pesquisa: A pesquisa será desenvolvida na FOP-UNICAMP, localizada à Av. Limeira, 901 – C.P. 52, CEP: 13414 900, Piracicaba-SP.

12. Telefones dos pesquisadores para contatos: Prof. Jaime A. Cury 430 5302
433 4736 / 433 9685. C.D. Celso S. Queiroz 875 0041 / (012) 331 9617.

13. Consentimento pós-informação:

Eu,....., certifico que tendo lido as informações acima e suficientemente esclarecido(a) de todos os itens pelo C.D. Celso S. Queiroz (Mestrando em Fisiologia e Biofísica do Sistema Estomatognático – FOP/UNICAMP) e Prof. Dr. Jaime A. Cury (Orientador), estou plenamente de acordo com a realização do experimento. Assim, autorizo a execução do trabalho de pesquisa, exposto acima, em mim.

Piracicaba, de de 1998.

Nome (por extenso):.....

Assinatura:.....

1ª via: Instituição

2ª via: Voluntário

Informações sobre a pesquisa:

- O estudo visa avaliar se o **período de tensão pré-menstrual**, geralmente caracterizado pelo **estresse promove alteração no odor do hálito bucal**;
- Estão sendo selecionadas **50** mulheres, dentre essas, **25** que alegam irritabilidade no período de TPM e **25** que não apresentam alterações emocionais nesse período;
- Para a participação no experimento a voluntária deve assinar um termo de informação e consentimento, deve preencher uma ficha de informações a respeito da saúde oral, geral e do ciclo menstrual e responder um questionário o qual avalia a presença ou ausência de estresse;
- Para a realização do experimento a voluntária deve se apresentar em jejum e sem nenhum tipo de higienização oral, nos dias e horários combinados (procurar prof. CINTHIA - disciplina de Bioquímica). As medidas serão realizadas da seguinte forma:
 1. **medida**: um dia durante o período que antecede a TPM,
 2. **medida**: um dia durante o período de TPM,
 3. **medida**: um dia durante o período de menstruação,
 4. **medida**: um dia durante o período após a menstruação.
- Para a mensuração do hálito utiliza-se um aparelho sensível à gases voláteis responsáveis pelo mau hálito (**HALÍMETRO**);
- Após a mensuração do hálito, será coletada a saliva em um copo plástico durante 5 minutos a fim de **medir o fluxo salivar**;
- Após o experimento será oferecido à voluntária um café da manhã em nossas dependências.

A sua colaboração é muito importante!

Desde já agradecemos

Disciplina de Bioquímica Oral.